3127

ERFAHRUNGEN MIT DER VORBEHANDLUNGSFREIEN G-BANDENTECHNIK NACH WALTHER

TYP UND VARIABILITÄT DER G-BANDENMUSTER IM VERGLEICH ZUR PARIS-NOMENKLATUR

Annemarie Hofmeister

1981

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Spiess)

ERFAHRUNGEN MIT DER VORBEHANDLUNGSFREIEN G-BANDENTECHNIK NACH WALTHER

TYP UND VARIABILITÄT DER G-BANDENMUSTER IM VERGLEICH ZUR PARIS-NOMENKLATUR

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Annemarie Hofmeister
aus München
1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät München

Berichterstatter: Prof. Dr. J.-D. Murken

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Spiess

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3o. Juli 1981

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG

2. LITERATUR ZUR DARSTELLUNG MENSCHLICHER METAPHASE-CHROMOSOMEN

2.1. ÄLTERE ZYTOGENETIK

2.1.1. HISTORISCHES

2.1.2. STANDARDPRÄPARATION

2.1.3. KONVENTIONELLE CHROMOSOMENANALYSE

2.2. NEUERE ZYTOGENETIK

2.2.1. HISTORISCHES

2.2.2. G-BANDEN

2.2.2.1. HISTORISCHES

2.2.2.2. SPEZIELLE METHODEN

a) mit Vorbehandlung

b) vorbehandlungsfreie WALTHER-Methode

2.3. VERSUCH ZUR SCHEMATISCHEN ERFASSUNG VON TYP UND VARIABILITÄT DER CHROMOSOMENBANDEN

2.3.1. VOR DER PARIS-KONFERENZ

2.3.1.1. Q-BANDEN

a) CASPERSSON et al.1970

b) MANOLOV et al.1971

2.3.1.2. G-BANDEN

a) DRETS und SHAW 1971

b) SCHNEDL 1971

c) SHIRAISHI und YOSIDA 1972

d) BIGGER et al.1972

e) CHRZ et al.1972

2.3.2. PARIS-KONFERENZ 1971

2.3.3. NACH DER PARIS-KONFERENZ

2.3.3.1. G-BANDEN-METAPHASESCHEMATA

a) SEABRIGHT et al. 1975

b) RAY et al. 1975

2.3.3.2. G- UND R-BANDENSCHEMATA FRÜHERER MITOSE-STADIEN

a) PRIEUR et al.1973

b) SKOVBY 1974

c) YUNIS und SANCHEZ 1974

d) BIGGER und SAVAGE 1975

2.3.4. ZUSAMMENFASSUNG

3. P R O B L E M S T E L L U N G

4. M A T E R I A L U N D M E T H O D I K

4.1. MATERIAL

4.2. CHROMOSOMENPRÄPARATION

4.3. G-BANDENFÄRBUNG NACH WALTHER

4.4. AUSWERTUNG DER BANDENMUSTER UND ERSTELLUNG DER SCHEMATA

5. E R G E B N I S S E

TYP UND VARIABILITÄT DER G-BANDENMUSTER, SCHEMA UND BESCHREIBUNG

6. D I S K U S S I O N

6.1. VALIDITÄT DER WALTHER-METHODE

6.2. DISKUSSION DER UNTERSUCHUNGSMETHODE

6.2.1. AUSWAHL

6.2.2. AUSWERTUNGSMETHODE

6.2.3. SCHEMATISCHE DARSTELLUNG

6.3. DISKUSSION DER ERGEBNISSE IM VERGLEICH ZUM PARIS-SCHEMA 1971 UND ZUM SUPPLEMENT 1975

6.3.1. ZENTROMER-REGION

6.3.2. VARIABLE REGIONEN

6.3.3. TERMINALE REGIONEN

6.3.4. LANDMARKEN

6.3.5. AUFSPALTUNG VON BANDEN

6.3.6. VERSCHMELZUNG VON BANDEN

6.3.7. LAGE UND AUSDEHNUNG DER BANDEN

6.4. ZUSAMMENFASSENDE WERTUNG DES SCHEMAS

6.5. BEDEUTUNG DER BEBANDETEN METAPHASE-CHROMOSOMEN FÜR DIE KLINIK

7. Z U S A M M E N F A S S U N G

8. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

9. A N H A N G

1. EINLEITUNG

Die vorbehandlungsfreie G-Bandentechnik nach WALTHER (1974, 1975) ist eine vereinfachte Färbemethode zur Darstellung von Giemsa-Banden an menschlichen Metaphasechromosomen.

Bisher war nicht bekannt, ob und inwieweit die Bandenmuster dieser neu eingeführten Methode prinzipielle Abweichungen von dem Standardschema der Paris-Nomenklatur aufweisen.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war Erfahrungen mit Typ und Variabilität dieser Bandenmuster zu sammeln und mit dem Paris-Schema zu vergleichen.

Dazu wurden die ersten 1oo aufeinanderfolgenden Lymphozytenkulturen, die im Rahmen der Routinediagnostik im Chromosomenlabor der Kinderpoliklinik München nach der WALTHER-Methode gefärbt waren, auf die Ausprägung der einzelnen Banden, sowie auf die für dieses Färbeverfahren spezifischen Merkmale untersucht. Die verschiedenen Merkmale wurden rein qualitativ erfaßt und quantitativ ausgewertet. Die Ergebnisse wurden in einem Bandenschema für alle Autosomenpaare zusammengefaßt und in einer vergleichenden Gegenüberstellung mit dem Paris-Schema erläutert.

Im folgenden Literaturteil wurden die Grundlagen zu den differentiellen Färbeverfahren erarbeitet, unter besonderer Berücksichtigung der bisherigen Versuche zur schematischen Erfassung von Typ und Variabilität der Bandenmuster.

2. LITERATUR ZUR DARSTELLUNG MENSCHLICHER METAPHASE-CHROMOSOMEN

2.1. ÄLTERE ZYTOGENETIK

2.1.1. HISTORISCHES

Erste Abbildungen von Chromosomen, damals noch als "Fäden" oder "Körner" bezeichnet, zeigte ARNOLD[1] 1879 in zytogenetischen Untersuchungen an Tumorzellen.

Der Begriff "Chromosom" wurde 1888 von WALDEYER geprägt: "Chromosomen sind anfärbbare, selbstreduplizierende Strukturen der Zellkerne, deren Zahl, Organisation und Form artspezifisch ist".

Ein erstes Karyogramm, allerdings mit falscher Chromosomenzahl, wurde 1906 von ARNOLD[1] aufgestellt.

Entscheidende Schritte für die weitere Entwicklung in der Zytogenetik waren:

die Einführung von Gewebekulturen (KEMP[1] 1929, CAFFIER[1] 1932, CHRUSTSCHOW[1] 1934, ANDRES und NARASCHIN[1] 1936, HSU 1952, TJIO und LEVAN 1956);

die hypotone Vorbehandlung der Chromosomen (HSU 1952);

die Anwendung des Spindelgifts Colchizin (FORD und HAMERTON 1956);

Mit Hilfe dieser Techniken gelang es schließlich nach jahrelangen widersprüchlichen Ergebnissen die Zahl des menschlichen Chromosomensatzes endgültig auf 46 festzulegen (TJIO und LEVAN an embryonalem Lungengewebe 1956, FORD und HAMER-

[1] Literatur zitiert in MURKEN J.D. und WILMOWSKY H.

TON an männlichen Keimzellen 1956).

Mit der Verwendung von Lymphozytenkulturen aus peripherem menschlichem Blut (MOORHEAD et al.196o) und der Entdeckung, daß das Mucoprotein Phythämagglutinin (PHA) eine zellteilungsstimulierende Wirkung auf Lymphozyten ausübt (NOWELL 196o), waren wesentliche Voraussetzungen zur Durchführung zytogenetischer Diagnostik chromosomaler Erkrankungen geschaffen.

2.1.2. STANDARDPRÄPARATION

MOORHEAD et al.(196o) und ARAKAKI und SPARKES (1963) entwickelten Standardmethoden zur routinemäßigen Herstellung von Chromosomenpräparaten. Wesentliche Punkte davon sind auch in den später aufgeführten Bandentechniken enthalten und sollen im Folgenden beschrieben werden:

Chromosomen treten nur während der Zellteilung (Mitose) als morphologisch abgrenzbare, lichtmikroskopisch analysierbare Strukturen in Erscheinung. Die zu Beginn der Mitose (Prophase) langgestreckten Strukturen verkürzen und verdicken sich im weiteren Verlauf, bis sie kurz vor der Aufteilung in zwei Tochterzellen das Stadium der stärksten Kondensation (= Kontraktion) erreichen (Metaphase).

Von peripherem Blut werden Lymphozytenkulturen angelegt und durch PHA zu mitotischen Teilungen angeregt. Durch Hinzugabe des Spindelgifts Colchizin erfolgt eine Blockierung der in vitro stattfindenden Zellteilungen und zwar eine Anreicherung von Zellen im Metaphasestadium.

Zur Quellung werden die Zellen in hypotones Milieu gegeben. Anschließend wird die Zellsuspension fixiert und auf Objektträger aufgebracht.

2.1.3. KONVENTIONELLE CHROMOSOMENANALYSE

Die Färbung der Standard-Chromosomenpräparate erfolgte mit den konventionellen Farbstoffen, z.B. Giemsa, Orcein, Fuchsin, Karminrot u.a..

Die auf diese Weise dargestellten Chromosomen zeigten eine homogene Anfärbung und ließen, abgesehen von Länge, Zentromerlage, Sekundärkonstriktionen und Satelliten, keine feineren Unterscheidungsmöglichkeiten zu. Eine weitere Differenzierung war mit Hilfe der Autoradiographie möglich (z.B. Unterscheidung der Chromosomen 4 und 5, Identifizierung des spätreplizierenden X-Chromosoms).

Nach den Nomenklaturvorschlägen, die im Rahmen dreier internationaler Konferenzen erarbeitet wurden (DENVER REPORT 1960, LONDON CONFERENCE 1963, CHICAGO CONFERENCE 1966), bezifferte man die Autosomenpaare nach abfallender Länge von 1 - 22 und teilte sie in sieben Gruppen (A - G) ein (s.Abb.1). Dies ermöglichte eine grobe Klassifizierung der Chromosomen in einzelne Gruppen. Eine Identifizierung war jedoch nur bei sechs der 22 Autosomenpaare innerhalb der A- und E-Gruppe möglich. Auch die Gonosomen X und Y konnten nicht eindeutig innerhalb ihrer Gruppe (C- bzw. G-Gruppe) erkannt werden.

Mit Hilfe der konventionellen Färbung konnte eine kleine An-

zahl der numerischen Chromosomenanomalien z.B. Trisomie G - Down-Syndrom, Trisomie D - Pätau-Syndrom, Trisomie E - Edwards-Syndrom und von Strukturaberrationen, z.B. Wolf-Syndrom (4p-), Cri-du-chat-Syndrom (5p-), 18p- und 18q- Syndrom diagnostiziert werden. Untersuchungen weiterer chromosomal bedingter Mißbildungssyndrome, vor allem auch hinsichtlich feinerer struktureller Aberrationen, scheiterten an der mangelnden Differenzierungsmöglichkeit der einzelnen Chromosomen.

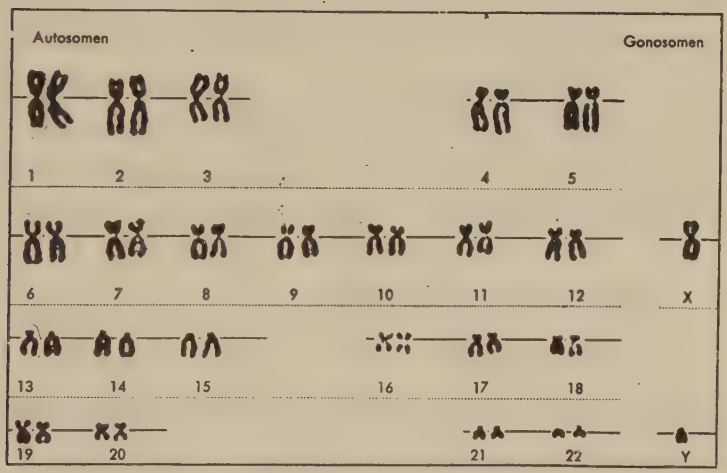


Abb.1: Konventionelles Karyogramm, bezeichnet nach der DENVER-Nomenklatur (1960)

2.2. NEUERE ZYTOGENETIK

2.2.1. HISTORISCHES

Die Identifizierung der einzelnen Chromosomen und ihre feinere morphologische Charakterisierung wurde erst mit der Entdeckung der Chromosomen-Bandentechniken möglich.

Bei dem Versuch, Mikrofluoreszenzmethoden zur Analyse der DNS-Verteilung auf den Chromosomen zu erarbeiten, beobachtete die Arbeitsgruppe CASPERSSON/ ZECH (Entdeckung an verschiedenen Pflanzen-und Tierspezies 1968 und 1969 von CASPERSSON et al.; an menschlichen Chromosomen 1969 von ZECH, 197o von CASPERSSON et al.) daß Chromosomen bei der Anfärbung mit Fluoreszenzfarbstoffen wie Quinacrin-Mustard oder Quinacrin Dihydrochlorid eine Querstreifung aufwiesen (Q-BANDEN). Die deutlich unterscheidbaren stark bis schwach fluoreszierenden Banden ergaben für jedes Chromosom ein charakteristisches Muster.

2.2.2. GIEMSA-BANDEN (G-BANDEN)

2.2.2.1. HISTORISCHES

Ausgangspunkt zur G-Bandenfärbung waren Versuche zur DNS/RNS-Hybridisierung von ARRIGHI und HSU (197o), bei denen sich zeigte, daß sich nach radikaler Vorbehandlung durch alkalische Denaturierung die zentromernahen Regionen sämtlicher Chromosomen (C-BANDEN) mit Giemsalösung dunkel anfärbten. Auch die unterhalb der Zentromer-Regionen gelegenen Sekundärkonstriktionen der Chromosomen 1,9,16, sowie der distale Teil des langen Y-Arms zeigten dunkle Anfärbung, während die übrigen Chromo-

somenabschnitte deutlich heller dargestellt waren und keine weitere Differenzierung zuließen.

Durch Modifikationen dieser Technik mit milderer Vorbehandlung (SCHNEDL 1971, GAGNE 1971, DRETS und SHAW 1971, SUMNER et al. 1971, SEABRIGHT 1971) konnte mit den Thiazinfarbstoffen Giemsa oder Leishman eine Untergliederung des gesamten Chromosoms in dunkle und helle Abschnitte (G-BANDEN) sichtbar gemacht werden. Die G-Bandenmuster zeigten eine weitgehende Übereinstimmung mit den Q-Bandenmustern, wobei die dunklen G-Banden den stark fluoreszierenden, die hellen G-Banden den schwach fluoreszierenden Q-Banden entsprachen.

Eine Negativ-Wiedergabe der G-Bandenmuster konnte 1971 von DUTRILLAUX dargestellt werden: Dabei färbten sich nach Vorbehandlung in heißem Puffer (85°C) die bei der G-Bandentechnik dunklen Areale in Giemsalösung hell an und die hellen Areale dunkel (reverse-Banden, R-BANDEN).

Eine Modifikation dieser Technik (DUTRILLAUX 1973) führte zur selektiven Anfärbung der Chromosomenenden (= terminale Region) mit Giemsafarbstoff (T-BANDEN).

2.2.2.2. SPEZIELLE G-BANDENMETHODEN

2.2.2.2.a) mit Vorbehandlung

In dem Zeitraum 1970 - 73 hatte sich herausgestellt, daß eine große Anzahl völlig unterschiedlicher Verfahren mit anschließender Giemsa-Färbung G-Bandenmuster hervorrufen konnte. Im Folgenden soll eine Übersicht über die verschiedenen Vor-

behandlungsmöglichkeiten gegeben werden:

A l k a l i s c h e D e n a t u r i e r u n g

Das Prinzip bei SCHNEDL (1971) beruhte auf 1-2 minütiger alkalischer Vorbehandlung in o,o7 N NaOH und anschließender Inkubation in neutralem Phosphat-Puffer (WEISE-Puffer, pH 6,8) für 16 h bei 59°C.

GAGNÉ et al.(1971) und DRETS und SHAW (1971) modifizierten die Konzentration der NaOH-Lösung bzw. die Dauer der NaOH-Inkubation und verwendeten andere Puffer (SSC-Puffer).

Durch Verwendung eines alkalischen Puffers (pH 9) für die Giemsa-Färbung konnten PATIL et al.(1971) alkalische Denaturierung und Färbung zu einem Vorgang vereinen.

H i t z e d e n a t u r i e r u n g

Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurde demonstriert, daß auch die Einwirkung erhöhter Temperatur vor der anschließenden Giemsa-Färbung zu G-Banden führen konnte (SUMNER 1971, YUNIS et al.1971, LOMHOLT et al.1971, KIM und PFEIFFER 1971). Dabei wurden die Präparate vor der Färbung in erhitztem Puffer (6o°C bei SUMNER, 85°C bei KIM) inkubiert.

E n z y m a t i s c h e V o r b e h a n d l u n g

Eine weitere Methode zur G-Bandendarstellung durch enzymatische Vorbehandlung beschrieb DUTRILLAUX 1971. Er inkubierte die Präparate vor der Färbung 3 - 6 min. in o,oo5% Pronaselösung.

SEABRIGHT (1971) verwendete dazu eine 25% Trypsinlösung, ver-

kürzte die Inkubationszeit auf 1o - 6o sec. und färbte mit Leishman-Methylenblau.

Die Enzymkonzentration wurde bei WANG und FEDOROFF (1972) und noch stärker bei SPERLING und WIESNER (1972) herabgesetzt (bei SPERLING nur noch o,oo5% Trypsin). Gleichzeitig vereinigte SPERLING die enzymatische Behandlung und Färbung zu einem Inkubationsvorgang. In ähnlicher Weise konnten SUN et al.(1973) durch Färbung in alkoholischer Trypsinhaltiger Leishmanlösung gute Ergebnisse erzielen.

Die Chromosomen der enzymatisch vorbehandelten Präparate zeigten die Eigenheit anzuschwellen. Die hellen Banden wirkten im Vergleich zu denen in nicht enzymatisch behandelten Präparaten breiter und waren gegen die dunklen Banden scharf abgegrenzt. Vorteile der enzymatischen Methode lagen in der insgesamt wesentlich kürzeren Behandlungszeit. Bei der Variabilität der Enzymaktivitäten ergaben sich jedoch Schwierigkeiten in der Erarbeitung von Standardprozeduren.

Weitere "bandenproduzierende" Agentien fanden SHIRAISHI und YOSIDA (1972) in Harnstoff, UTAKOJI (1972) in K^{+}-Permanganat KATO und MORIWAKI (1972) beobachteten, daß alkalische Salzlösungen, proteindenaturierende Stoffe und Detergentien zur Bandendarstellung führten, im Gegensatz zu alkalischen Lösungen jedoch Säuren keine Bandenmuster sichtbar machen konnten.

2.2.2.2.b) ohne Vorbehandlung, G-Bandenmethode nach WALTHER

Anlaß zur Entwicklung der G-Bandenmethode durch J.U.WALTHER im Chromosomenlabor der Kinder-Universitäts-Poliklinik München war, daß die bislang beschriebenen G-Bandentechniken nicht mit genügender Zuverlässigkeit reproduziert werden konnten. Versuche von WALTHER im Zeitraum 1971-1974 unter Zuhilfenahme der bekannten Methoden eine G-Bandenmethode zu etablieren, die hinsichtlich Zuverlässigkeit, Praktikabilität und Aussagekraft als Routineverfahren in der zytogenetischen Diagnostik geeignet wäre, führte zu folgender Modifikation der Färbemethode nach SPERLING:

Im Unterschied zu der von Sperling beschriebenen enzymatischen Vorbehandlung mit Trypsin (s.S.9) enthält die Technik nach WALTHER et al.(1974) nach der Fixierung der Chromosomen keine proteindenaturierenden Schritte, daher die Bezeichnung "vorbehandlungsfreie" G-Bandenmethode.

Entscheidende Bedeutung bei der Bandendarstellung kommt der genauen Einstellung der Farbstoffkonzentration zu; insgesamt findet eine Farbstoffreduktion auf ca. die Hälfte der bei konventioneller Färbung üblichen Konzentration statt. WALTHER sieht den wesentlichen Schritt von der konventionellen Darstellung zur Bandendarstellung in der "Vermeidung von Überfärbung" (1975). Bei Einhaltung der entsprechenden Konzentration ist die Art des Farbstoffs austauschbar.

Ein weiterer wesentlicher Faktor für die G-Bandendarstellung liegt in der Anwesenheit von Kationen in einer bestimmten

Konzentration, die mit dem Farbstoff in einem speziellen Gleichgewicht stehen muß (ENDRES et al. 1977).

Untersuchungen von WALTHER über die Abhängigkeit der Bandenqualität vom pH-Wert ergaben, wie schon bei SPERLING, die optimale Bandenausbeute bei pH 6,8.

Bei einer ersten Gegenüberstellung von je 5 Exemplaren der 24 verschiedenen Chromosomentypen konnte von WALTHER (1975) eine grobe Übereinstimmung mit den Bandenmustern des Paris-Schemas festgestellt werden. Im Unterschied zu den bisher beschriebenen G-Bandentechniken gewann er den Eindruck, daß sich die Zentromer-Regionen aller Chromosomen, insbesondere die variable Region des langen Arms von Chromosom 9, bei Anwendung seiner Methode dunkel anfärbten und sah in ihr demzufolge eine "C-G-Bandentechnik".

2.3. VERSUCHE ZUR SCHEMATISCHEN ERFASSUNG VON TYP UND VARIABILITÄT DER CHROMOSOMENBANDEN

Im Folgenden soll in zeitlicher Reihenfolge auf die bisherigen Versuche eingegangen werden, die Bandenmuster des menschlichen Karyotyps schematisch darzustellen. Besonders berücksichtigt werden dabei das dem Schema zugrunde liegende Untersuchungsmaterial, methodisches Vorgehen zur Erstellung des Schemas, Besonderheiten des Schemas, sowie etwaige Vorschläge zur Nomenklatur.

2.3.1. VOR DER PARIS-KONFERENZ

2.3.1.1. Q-BANDEN

2.3.1.1.a) CASPERSSON T., LOMAKKA G., ZECH L. (197o)

CASPERSSON et al.(197o) führten Untersuchungen über Typ und Variabilität von Q-Bandenmustern am umfangreichen Material von 5ooo Chromosomen, d.h. über 2oc Chromosomen für jeden der 24 Chromosomentypen durch. Die Mitosen stammten von 14 gesunden Individuen.

Mit photoelektrischen Messungen der Fluoreszenz entlang der Chromosomen konnte er die verschiedenen Bandenmuster graphisch in Form von Kurven darstellen und gleichzeitig die unterschiedliche Fluoreszenzintensität quantitativ erfassen (s.Abb.2). Die auf diese Weise unterscheidbaren 24 Chromosomentypen ordneten CASPERSSON et al. (197o) nach den Vorschlägen der DENVER Nomenklatur nach abfallender Chromosomenlänge und Zentromerindex an und bezeichneten sie mit Nummern von 1 - 22, X und Y. Bei dieser Festlegung der Identifikationszahlen wurden auch Erfahrungen der vorhergegangenen Versuche mit der Autoradiographie und der zugehörigen klinischen Bilder berücksichtigt, z.B. bei der Bezeichnung der Chromosomen 4 und 5, sowie 21 und 22. Die Identifikationszahlen wurden in der Folge von mehreren Autoren übernommen und der späteren PARIS-NOMENKLATUR zugrundegelegt.

Beim Vergleich der zahlreichen Kurven für jeden Chromosomentyp konnten CASPERSSON et al.(197o) folgende Feststellungen über die Variabilität der Fluoreszenzmuster treffen:

1. Abgesehen von bestimmten Regionen mit besonders starker Fluoreszenz, die erheblicher individueller Variation unterlagen (am stärksten der distale Teil des langen Y-Arms, der kurze Arm der Chromosomen 13,14,15,21 und 22, ferner die zentromernahe Region des Chromosoms 3) war eine gute Übereinstimmung der Muster sowohl unter den Homologen eines Individuums, als auch unter den verschiedenen Individuen zu beobachten.

2. Je stärker die Chromosomen kontrahiert waren, desto mehr verlor der Kurvenverlauf an Details.

CASPERSSON et al.(1970) hielten wegen der Unfähigkeit des menschlichen Auges Übergänge von stark zu schwach fluoreszierenden Banden genau zu erkennen, photometrische Messungen für eine vollständige Analyse erforderlich. Möglichkeiten zur Verbesserung der visuellen Einschätzung sah er in der Kontrastverstärkung bei der Anwendung von TV-Techniken

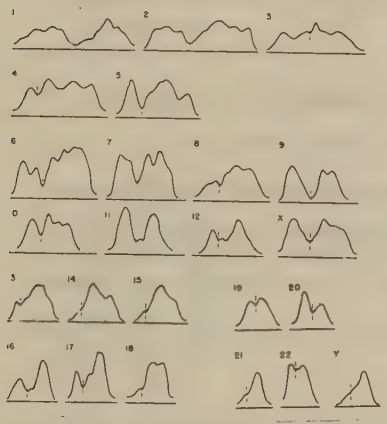


Abb.2:
Photometrische Bestimmung der Fluoreszenzmuster (aus CASPERSSON et al. 1970).

2.3.1.1.b) MANOLOV G., MANOLOVA Y., LEVAN A. (1971)

In dieser Studie wurden die charakteristischen Merkmale der 24 menschlichen Chromosomentypen anhand der Q-Bandenmuster von 32 Lymphozytenkulturen gesunder Individuen erarbeitet. Dazu wurden Zellen ausgewählt, die ein hochdifferenziertes Fluoreszenzmuster aufwiesen.

Mittels Längenmessung konnten Lokalisation und Ausdehnung der Banden festgelegt werden. Als Maßeinheit verwendete man 1% der Länge des weiblichen haploiden Chromosomensatzes (nach PENROSE 1964). Im Schema wurden die Banden gemäß ihres durchschnittlichen Abstands zum Zentromer eingezeichnet.

Nach visueller Einschätzung unterschieden MANOLOV et al. (1971) innerhalb der dunkel und hell fluoreszierenden Banden wiederum zwei bzw. drei Abstufungen ("dark, dim und light, bright, intense"), was im Schema in fünf unterschiedlichen Grautönen von dunkelgrau bis zu sehr hellem Grau zum Ausdruck kam (s.Abb.3).

Die Auswertung des Schemas ergab insgesamt 211 Banden, 113 helle und 98 dunkle Banden. Die Zentromerregion wurde durchwegs dunkel dargestellt, die Chromosomenenden überwiegend als hell fluoreszierende Bereiche. Wegen ihrer ausgeprägten individuellen Variabilität wurden die Satelliten der Chromosomen 13,14,15,21 und 22 nicht gewertet und im Schema durch Kreise symbolisiert.

Zur Bezeichnung der einzelnen Banden wurde eine Nomenklatur

vorgeschlagen, in der die Banden jeweils vom Zentromer zu den Chromosomenenden durchnumeriert wurden. Nachdem das Zentromer bei sämtlichen Chromosomen dunkel gesehen wurde und als Ausgangspunkt der Zählung mit O bezeichnet wurde, ergaben sich für alle hell fluoreszierenden Banden ungerade, für alle schwach fluoreszierenden Banden gerade Zahlen.

Das MANOLOV-Schema zeigte wenig Übereinstimmung mit dem von CASPERSSON beschriebenen charakteristischen Q-Bandenmuster der 23 Chromosomenpaare.

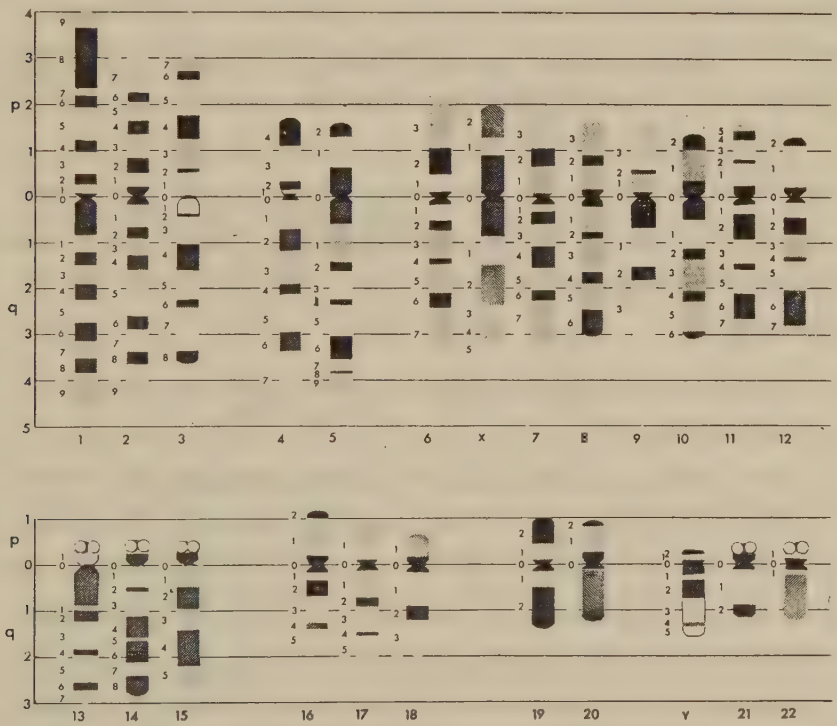


Abb.3: Schematische Q-Bandendarstellung (aus MANOLOV et al. 1971)

2.3.1.2. G-BANDEN

2.3.1.2.a) DRETS M.E. und SHAW M.W. (1971)

DRETS und SHAW (1971) beschrieben ihre ersten Erfahrungen mit G-Bandenmustern und gaben die wesentlichen Beobachtungen in einem Bandenschema wieder (s.Abb.4a).

Als Untersuchungsmaterial diente eine Auswahl von 15 Mitosen mit guter Bandenqualität, die von 3 männlichen Individuen stammten.

Quantitativ wurde ausgewertet, wie informativ die Bandenmuster waren, d.h. wieviele Chromosomen "sicher", "wahrscheinlich" oder "nicht" identifiziert werden konnten. Es ergab sich eine gute Übereinstimmung der Bandenmuster von Homologen derselben Zelle, verschiedener Zellen eines Individuums und Zellen verschiedener Individuen. Die für charakteristisch befundenen Bandenmuster wurden nach Augenmaß in ein Schema übertragen.

Die schematische Darstellung zeigte ein einfaches Bandenmuster, in dem die G-positiven Bereiche als schwarze Banden zu sehen waren, während die G-negativen Bereiche als sogenannte Interbanden weiß blieben. Dabei überwogen flächenmäßig die weißen Bereiche. DRETS und SHAW beschrieben vor allem die breiteren G-negativen Bereiche als wichtige Erkennungsmerkmale der verschiedenen Chromosomentypen. Die Zentromer-Region war durchwegs schwarz eingetragen, ebenso die Sekundärkonstriktionen der Chromosomen 1 und 16. Dagegen waren die Chromosomenenden meist weiß dargestellt (ausgenommen

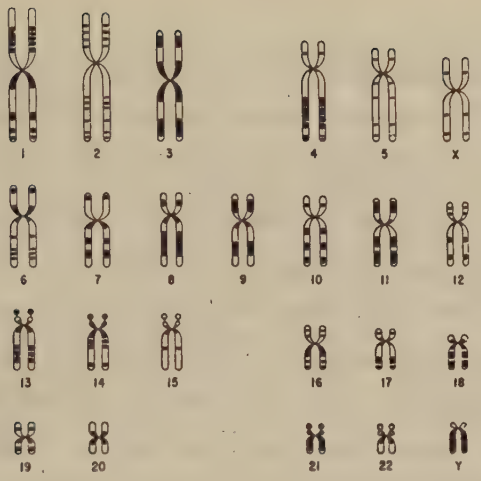


Abb.4a: Erstes G-Bandenschema von Metaphasechromosomen; aus DRETS und SHAW 1971;

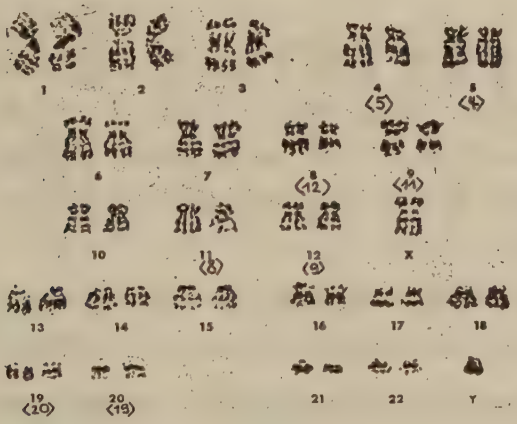


Abb.4b: Ausschnitt aus einem Karyogramm (Chromosomen 1-X); aus DRETS und SHAW 1971; die in Klammern gesetzten Ziffern kennzeichnen die Anordnung nach der Paris-Nomenklatur;

die Satelliten der Chromosomen 13,14,21 und des langen Arms von 16, 17 und Y). Variable Banden wurden nicht angegeben.

Die Anordnung der Chromosomen erfolgte wie bei CASPERSSON et al.197o nach Länge und Zentromerindex. Unsicherheit in der Zuordnung der Chromosomenpaare zu bestimmten Identifikationsziffern führten vielfach zu Schwierigkeiten, was folgendes Beispiel verdeutlicht: DRETS und SHAW stellten eine helle Anfärbung der Sekundärkonstriktion des Chromosoms 9 fest. Bei Betrachtung der in derselben Arbeit aufgeführten Karyogramme (s.Abb.4b) war jedoch erkennbar, daß das nach der heutigen Definition (und auch bei CASPERSSON et al.197o) bezeichnete Chromosom 9 an dieser Stelle eine dunkle Anfärbung aufwies.

2.3.1.2.b) SCHNEDL W. (1971)

Ein detailliertes Bandenschema (s.Abb.5) erarbeitete SCHNEDL 1971 anhand von Beobachtungen an Metaphasen (genaue Zahl nicht angegeben) und an über 1oo Prometaphasen von 1o gesunden Individuen.

Die Erstellung des Schemas erfolgte vermutlich nach visueller Einschätzung; Meßmethoden werden nicht erwähnt.

Die Prometaphase-Chromosomenbanden, die erfahrungsgemäß bei stärkerer Kontraktion zu einer Bande verschmolzen, kennzeichnete SCHNEDL mit "Klammern". Die Verschmelzung erschien bei den 24 Chromosomentypen unterschiedlich stark: Während z.B. bei Chromosom 1 oder 3 entlang des gesamten Chromosoms Ban-

den verschmolzen, erfuhr das Bandenmuster in Chromosom 4 keine Veränderung.

Hinsichtlich der flächenmäßigen Verteilung von schwarzen und weißen Banden (weiße Banden überwiegen flächenmäßig), Anfärbung der Zentromer-Region (außer der hellen Zentromerdarstellung in 2, 9 und 13 dunkle Anfärbung), Darstellung von Sekundärkonstriktionen (dunkel in 1 und 16, hell in 9) und Telomeren (überwiegend hell eingezeichnet) ergaben sich ähnliche Befunde wie bei DRETS und SHAW 1971.

Abgesehen von einer Veränderung (Austausch des Chromosoms 17 mit 18) übernahm SCHNEDL die Anordnung der Chromosomenpaare von CASPERSSON 197o.

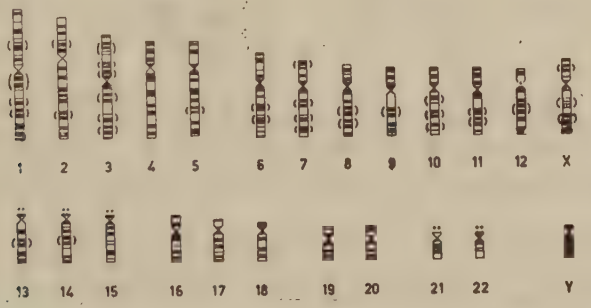


Abb.5: Diagramm der Bandenmuster in Prometa- und Metaphase (aus SCHNEDL 1971)

2.3.1.2.c) SHIRAISHI Y. und YOSIDA T.H. (1972)

Dem in Abb.6 gezeichneten Schema lagen Untersuchungen an 5o Metaphasen von 1o gesunden Individuen zugrunde. Es wurden nur Chromosomen von mittlerem Kontraktionszustand verwendet.

Die schematische Darstellung der Bandenmuster erfolgte vermutlich, wie auch bei DRETS et al.(1971) und SCHNEDL (1971), nach optischem Eindruck. Es konnte eine gute Reproduzierbarkeit der Bandenmuster festgestellt werden.

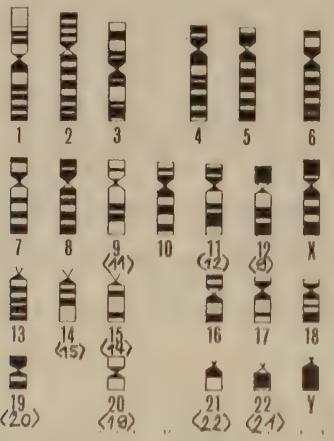


Abb.6: Schematisiertes Karyogramm;die in "Klammern" gesetzten Ziffern bezeichnen die Anordnung der Chromosomen nach CASPERSSON et al.(1970). (Aus SHIRAISHI und YOSIDA 1972).

Bei der Verteilung der schwarzen und weißen Banden schienen im Gegensatz zu DRETS et al.(1971) und SCHNEDL (1971) die schwarzen Banden zu überwiegen. Dagegen fanden sich hinsichtlich Zentromer, Sekundärkonstriktionen und variablen Regionen (werden nicht beschrieben) keine neuen Gesichtspunkte. Die Chromosomenenden waren häufiger als in den vorhergehenden Schemata dunkel angefärbt dargestellt.

Die Anordnung der Chromosomen wich insgesamt beträchtlich von der CASPERSSON-Nomenklatur (1970) ab, was die in "Klammern" gesetzten Ziffern verdeutlichen (s.Abb.6).

2.3.1.2.d) BIGGER T.R.L., SAVAGE J.R.K., WATSON G.E. (1972)

In dieser Studie wurden G-Bandenmuster von Fibroblastenkulturen auf Ausdehnung, Lage, Farbintensität und auf die Häufigkeit der beobachtbaren Banden untersucht. Über das Untersuchungsmaterial lagen hinsichtlich Auswahlkriterien, Anzahl der Kulturen und Individuen keine Angaben vor.

Wie bei den vorhergehenden Arbeiten über G-Bandenmuster war kein Meßverfahren für die Erstellung des Schemas angegeben.

Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden von BIGGER et al. 1972 in Form zweier Bandenschemata veranschaulicht (s.Abb.7): Das rechte Chromatid im Schema gab die maximale Anzahl der beobachteten Banden wieder. Die unterschiedliche Farbintensität der Banden kam durch fünf verschiedene Abstufungen von weiß bis dunkelgrau zum Ausdruck.
Das linke Chromatid stellte als eine Art Durchschnittskaryogramm das am häufigsten zu beobachtende Bandenmuster dar. Die unterschiedliche Prominenz der Banden wurde durch die Verwendung von vier Scheiben unterschiedlicher Größe veranschaulicht. Mutmaßliche Verschmelzungen von Banden, die von dem komplexeren Muster zu dem Durchschnittsmuster führten, wurden in Querstrichen angedeutet.

Im rechten Schema waren 153 dunkle Banden eingezeichnet, wohingegen das linke Schema 112 dunkle Banden aufwies. Nur die dunklen Banden wurden gezählt; die hellen Bereiche wurden nicht als gleichbedeutend mit den dunklen angesehen, sondern als "interband regions" bezeichnet.

Hinsichtlich der Darstellung von Zentromer und Sekundärkonstriktionen zeigte das Schema verglichen mit den vorhergehenden G-Bandenschemata keine neuen Aspekte Ebenso kamen variable Bereiche nicht gesondert zur Darstellung. Während im komplexen Schema die Chromosomenenden durchwegs hell dargestellt waren, bildeten im Durchschnittsmuster mehrfach dunkle Banden den Abschluß. Nach dem Gesamteindruck überwogen im komplexen Schema die hellen, im Durchschnittsschema die dunklen Banden.

BIGGER et al. 1972 stellten eine eigene Nomenklatur , das "HARWELL-SCHEMA" auf: Die Anordnung der Chromosomen erfolgte nach CASPERSSON et al.197o, mit der Änderung, daß X und Y in der Reihenfolge zuletzt kamen. Die dunklen Banden der 24 Chromosomentypen wurden fortlaufend durchnumeriert, wobei bei der am weitesten distal gelegenen dunklen Bande des langen Arms von 1 mit der Zählung begonnen wurde (s.Abb.7). So erhielt jede dunkle Bande eine Bezeichnung, das Zentromer nur, wenn es als dunkle Bande dargestellt, oder in eine angrenzende dunkle Bande miteinbezogen war.

Bei einem Vergleich ihres komplexen Schemas mit bisher publizierten G-Bandenkaryogrammen, denen andere G-Bandenmodifikationen zugrundelagen, fanden BIGGER et al.1972 überwiegend gute Übereinstimmung. Diskrepanzen führten sie auf den unterschiedlichen Spiralisationsgrad zurück, so z.B. bei den von SCHNEDL 1971 verwendeten Prometaphasechromosomen, ferner auf die Anordnungsdifferenzen der verschiedenen Arbeitsgruppen.

2.3.1.2.e) CHRZ R., KOZAK J., MALKOVA J. (1972)

CHRZ et al.1972 untersuchten Typ und Variabilität von G-Bandenmustern an 3o Metaphasen.

Als Meßinstrument verwendete er ein Mikrodensitometer, ein Gerät zur photoelektrischen Registrierung der Schwärzung. Entsprechend der photometrischen Messung von Q-Banden bei CASPERSSON et al.197o konnten nun auch G-Bandenmuster graphisch in Kurvenform dargestellt werden und quantitativ erfaßt werden (s.Abb. 8a). Dabei konnte eine weitgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen von CASPERSSON festgestellt werden.

Anhand der densitometrischen Meßkurven wurde ein Schema (s. Abb.8b) erstellt(über das Vorgehen für die Erarbeitung des Bandenschemas keine Angaben). CHRZ et al.1972 konnten darin eine größere Anzahl von Banden differenzieren, als bei der bloßen visuellen Betrachtung.

Die Bandenmuster aller Chromosomentypen waren relativ konstant. Eine gewisse Variabilität wurde in Abhängigkeit vom Spiralisationsgrad und von der Färbequalität beobachtet.

Die unterschiedliche Anfärbung der Banden kam im Schema in Farbabstufungen von weiß über mehrere Grautöne bis schwarz zum Ausdruck. Die densitometrische Methode erlaubte keine exakte Bestimmung der Zentromerposition; im Schema war dieser Bereich häufiger hell dargestellt. Die Sekundärkonstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16 waren schwarz eingetragen. Hinsichtlich der terminalen und variablen Regionen ergaben sich Befunde, wie in den vorhergehenden Arbeiten.

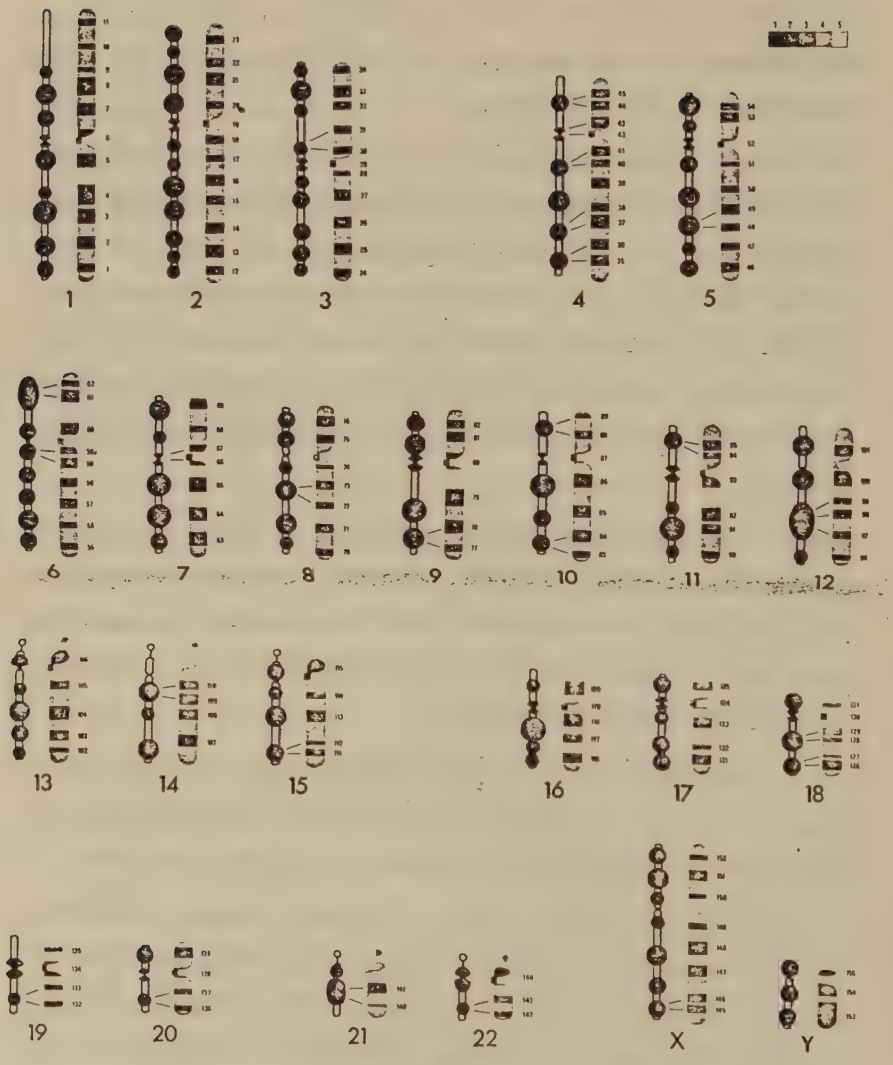


Abb. 7: HARWELL-Schema; aus BIGGER et al. 1972. Darstellung der maximalen Bandenzahl im rechten Beispiel, der durchschnittlich sichtbaren Banden im linken Bsp.

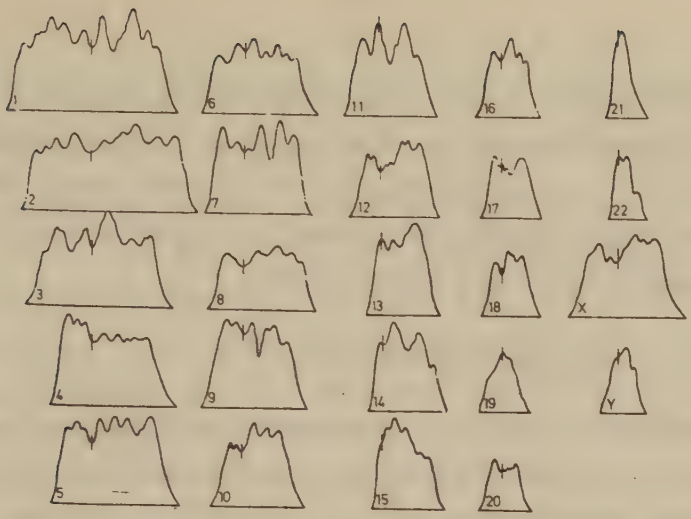


Abb.8a): Densitometrische G-Bandenmuster menschlicher Metaphasechromosomen. Aus CHRZ et al. 1972

Abb.8b): Aus densitometrischen Messungen erstelltes Schema von G-Bandenmustern. Aus CHRZ et al. 1972.

Wie CASPERSSON et al. 197o sahen auch CHRZ et al. 1972 in der quantitativen Analyse einen genaueren Informationswert als in der visuellen Beurteilung, mit der Begründung, daß die graduellen Übergänge der Banden ineinander mit dem Auge ungenügend eingeschätzt werden könnten.

2.3.2. DIE PARIS-KONFERENZ 1971

Die voneinander abweichenden Bandenschemata, die im wesentlichen auf Anordnungsdifferenzen zurückzuführen waren, machten eine gemeinsame Nomenklatur als Kommunikationsbasis dringend erforderlich. 1971 wurde auf dem 4.Internationalen Kongreß für Humangenetik in Paris eine Nomenklatur erarbeitet, die seither allgemein anerkannt und verwendet wird. Aus den Erfahrungen mit Q-, G- und R-Bandentechniken wurde ein zusammenfassendes Diagramm, das Paris-Schema, erstellt, das die charakteristischen Bandenmuster des menschlichen Chromosomensatzes darstellen sollte (s.Abb.9).

Im Folgenden werden die für die vorliegende Arbeit wesentlichen Punkte der Paris-Nomenklatur aufgeführt und eine kurze Erläuterung zum Paris-Schema gegeben:

Die Autosomenpaare werden in der 197o von CASPERSSON et al. vorgeschlagenen Anordnung von 1-22 fortlaufend numeriert. Die Bezeichnung mit Buchstaben wird nur für die Gonosomen X und Y beibehalten. Die Symbole p und q stehen für denkurzen bzw. langen Arm des Chromosoms. Ein Plus- oder Minuszeichen vor der Chromosomenziffer bedeutet das zusätzliche Vorhandensein oder den Verlust des betreffenden Chromosomenarms. Das Plus-

oder Minuszeichen nach dem Armsymbol zeigt eine Verlängerung oder Verkürzung des betreffenden Chromosomenarms an.

Die Chromosomen werden in verschiedene R e g i o n e n eingeteilt, die vom Zentromer zu den Chromosomenenden hin fortlaufend numeriert werden. Als Region definiert man einen Chromosomenabschnitt, der nach proximal und distal von besonders charakteristischen Chromosomenstrukturen, den L a n d m a r k e n , eingegrenzt wird. Unter den Landmarken versteht man prominente und zur Erkennung des jeweiligen

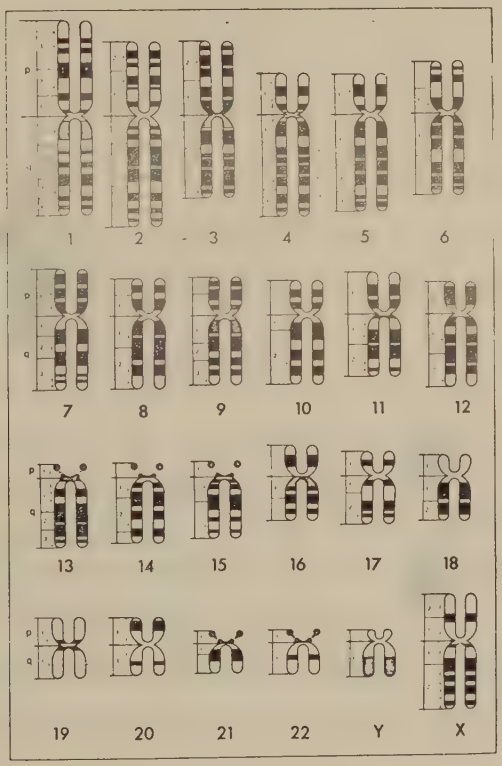


Abb.9:
Paris-Diagramm, schematische Darstellung der Chromosomenbanden (Paris-Konferenz 1971).

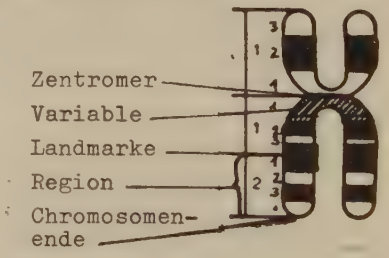
Chromosoms wichtige Banden, sowie das Zentromer und die Chromosomenenden. Die Banden innerhalb einer Region werden von proximal nach distal (in Bezug auf das Zentromer) fortlaufend numeriert. Eine Landmarke zählt als erste Bande der sich distal anschließenden Region.

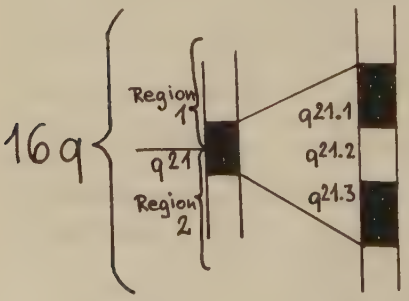
Eine B a n d e definiert man als Chromosomenabschnitt, der durch dunklere oder hellere Färbung deutlich von den angrenzenden Abschnitten unterscheidbar ist. Demgemäß zeigen Chromosomen einen Wechsel von hellen und dunklen Banden: definitionsgemäß gibt es keine "Interbanden".

Eine spezielle Bande wird durch die vier folgenden Punkte gekennzeichnet:

Identifikationszahl des Chromosomenpaares (1-22, X, Y)
Armsymbol (p oder q)
Ziffer der Region
Ziffer der Bande

z.B. dunkle Landmarke auf dem langen Arm des Chromosoms 16 = 16q21





Unterteilungen von Banden werden folgendermaßen bezeichnet: Auf die Zahl der zugehörigen Region und Bande folgt ein Dezimalpunkt , anschließend die vom Zentromer zu den Enden numerierte Unterbande, z.B. 16q21 in 16q21.1, 16q21.2 und 16q21.3.

Wie bereits erwähnt, beruhte das Paris-Schema auf den Ergebnissen dreier unterschiedlicher differentieller Färbeverfahren, der Q-,G-und R-Bandentechnik, die im wesentlichen eine zufriedenstellende Übereinstimmung zeigten. Auf geringe Abweichungen infolge der für die einzelnen Färbeverfahren spezifischen Merkmale wurde zugunsten einer einheitlichen Darstellung nicht eingegangen. Die im Paris-Schema schraffierten Bezirke, die v a r i a b l e n R e g i o n e n (das sind Banden, Zentromerbereich, Satellitenregion, distaler Teil des langen Y-Arms), die in Fluoreszenz oder Anfärbung unterschiedlich ausgeprägt sind, bezogen sich ausschließlich auf Q-Banden. Zusätzlich zu den bei CASPERSSON et al. 197o beschriebenen variablen Bereichen (s.S.13) war im Paris-Schema noch die Zentromerregion des Chromosoms 4 aufgeführt. Bei der Wahl der Landmarken wurden teilweise besonders intensiv fluoreszierende Banden berücksichtigt, was den beiden übrigen Färbemethoden nicht immer gerecht werden konnte.

Das Paris-Schema zeigte insgesamt 322 schwarze, weiße und variable Banden, wobei die schwarzen Banden flächenmäßig überwogen. Zentromerregionen und terminale Regionen waren überwiegend weiß dargestellt. Die Sekundärkonstriktionen der Chromosomen 1,9 und 16 waren als variable Banden veranschaulicht. Farbabstufungen der verschiedenen Banden kamen im Schema nicht zum Ausdruck.

Das Paris-Schema beruhte auf der visuellen Einschätzung der Banden, nicht auf Meßergebnissen.

2.3.3. NACH DER PARIS-KONFERENZ

2.3.3.1. G-BANDEN-METAPHASE-SCHEMATA

2.3.3.1.a) SEABRIGHT M., COOKE P., WHEELER M. (1975)

In dieser Arbeit wurde die Variabilität der G-Bandenmuster in Abhängigkeit vom Spiralisationsgrad an 15 Metaphasen von 5 Individuen untersucht, die mit der Trypsin/Leishman-Methode nach SEABRIGHT gefärbt waren. Als Maß für den Spiralisationsgrad wurde die totale Chromatinlänge jeder Mitose gemessen (wie MANOLOV et al. 1971) und umgekehrt proportional zur Chromosomendicke gesetzt. Als Meßinstrument diente ein Opisometer, ein Längenmeßinstrument, das Krümmungen mitberücksichtigt ("Kurvenmesser"). Es wurden die Regionen sämtlicher Chromosomen gemessen und ihre Ausdehnung prozentual zur Gesamt-Chromosomenlänge ausgedrückt.

SEABRIGHT et al.1975 konnten die Bandenmuster gemäß dem unterschiedlichen Spiralisationsgrad in drei Typen einordnen und schematisch veranschaulichen:

1. ein Durchschnittsmuster bei Chromosomen mittlerer Kontraktionsstufe, das am häufigsten zu beobachten war (s.Abb.1oa);
2. ein komplexes Bandenmuster mit hoher Bandenauflösung bei Mitosen hoher Gesamt-Chromatinlänge (s.Abb.1ob) jeweils linkes Beispiel);
3. ein einfaches Muster mit relativ geringer Bandenanzahl bei stark kontrahierten Chromosomen (s.Abb.1ob) jeweils rechtes Beispiel).

Einfachheitshalber wurden bei dem Durchschnittsmuster die

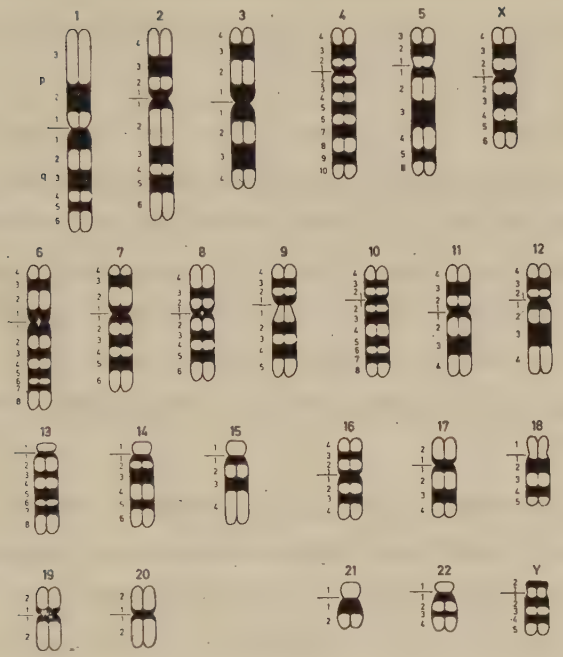


Abb.1o a): Durchschnittsmuster des menschlichen Karyotyps. Aus SEABRIGHT et al. 1975

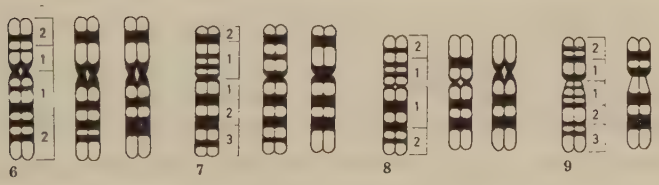


Abb.1o b): Bandenmuster bei unterschiedlichem Spiralisationsgrad am Beispiel der Chromosomen 6,7,8,9. Aus SEABRIGHT 1975

Banden nicht nach der Paris-Nomenklatur bezeichnet, sondern die schwarzen und weißen Banden fortlaufend vom Zentromer zu den Enden durchnumeriert.

Jedes der drei Schemata zeigte hinsichtlich Lage und Ausdehnung der Banden erhebliche Abweichungen vom Paris-Schema. Dabei waren bei dem komplexen Schema weniger Differenzen zum Paris-Schema zu beobachten,als bei den übrigen beiden Schemata. Die dunklen Banden fielen insgesamt zugunsten der Breite der hellen Banden schmäler aus, was wohl methodenspezifisch mit der Anwndung der enzymatischen Vorbehandlung zu erklären war.

Die Zentromer-Region der 24 Chromosomentypen war durchwegs dunkel, die terminalen Regionen durchwegs hell dargestellt. Die Sekundärkonstriktionen der Chromosomen 1 und 16 waren dunkel eingetragen, im Gegensatz zu der hellen Region in 9. Variable Bereiche kamen im Schema nicht zum Ausdruck.

Bemerkenswert bei der Betrachtung der drei Schemata war die Tatsache, daß die Abnahme der Bandenzahl vom komplexen zum einfachen Schema bei den 24 Chromosomentypen unterschiedlich war (s.auch SCHNEDL 1971 in 2.3.1.2.b). Während z.B. bei den Chromosomen 2,5,8,X, mit zunehmender Kontraktion eine erhebliche Abnahme der Bandenzahl verbunden war, erfuhren die Muster anderer Chromosomen, wie 3,1o,17,18, in den verschiedenen Kontraktionsstufen der Metaphase wenig Veränderung.

2.3.3.1.b) RAY M., CUNNING N., HAMERTON J. (1975)

Als Untersuchungsmaterial verwendeten RAY et al.1975 25 Metaphasen von 5 Individuen, die nach einer Modifikation der SEABRIGHT-Technik gefärbt waren. Für die 24 Chromosomentypen wurden die charakteristisch befundenen Bandenmuster nach visueller Einschätzung in einem Schema, dem WINNIPEG-Schema, veranschaulicht (s.Abb.11). Im Hinblick auf eine realistischere Darstellung wurde zusätzlich zu den schwarzen, weißen und variablen Banden des Paris-Schemas eine vierte Art, die sich schwach anfärbenden und nicht konstant beobachtbaren Banden eingeführt.

RAY et al.1975 konnten eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Paris-Schema und erarbeitetem Schema feststellen. Die Unterschiede waren im Wesentlichen auf folgende Merkmale begrenzt:

Statt 322 Banden im Paris-Schema waren hier aufgrund von Unterteilungen maximal 346 Banden abgrenzbar.

Gegenüber 13 Variablen im Paris-Schema (wobei RAY et al. die Satelliten nicht miteinbezogen) stellten sich im WINNIPEG-Schema nur 2 variable Banden dar (3q11, Yq12).

Wesentliche Bedeutung zur Identifizierung der Chromosomen maßen RAY et al. ausschließlich bestimmten dunklen Banden zu, während im Paris-Schema sowohl helle als auch dunkle Banden als Landmarken imponierten.

Die Zentromer-Region war,abgesehen von den Chromosomen 3,13, 14,15,17,19,2o,21 und 22 dunkel, die terminalen Regionen hell dargestellt. Die Sekundärkonstriktionen waren wie bei SEABRIGHT et al.1975 eingezeichnet.

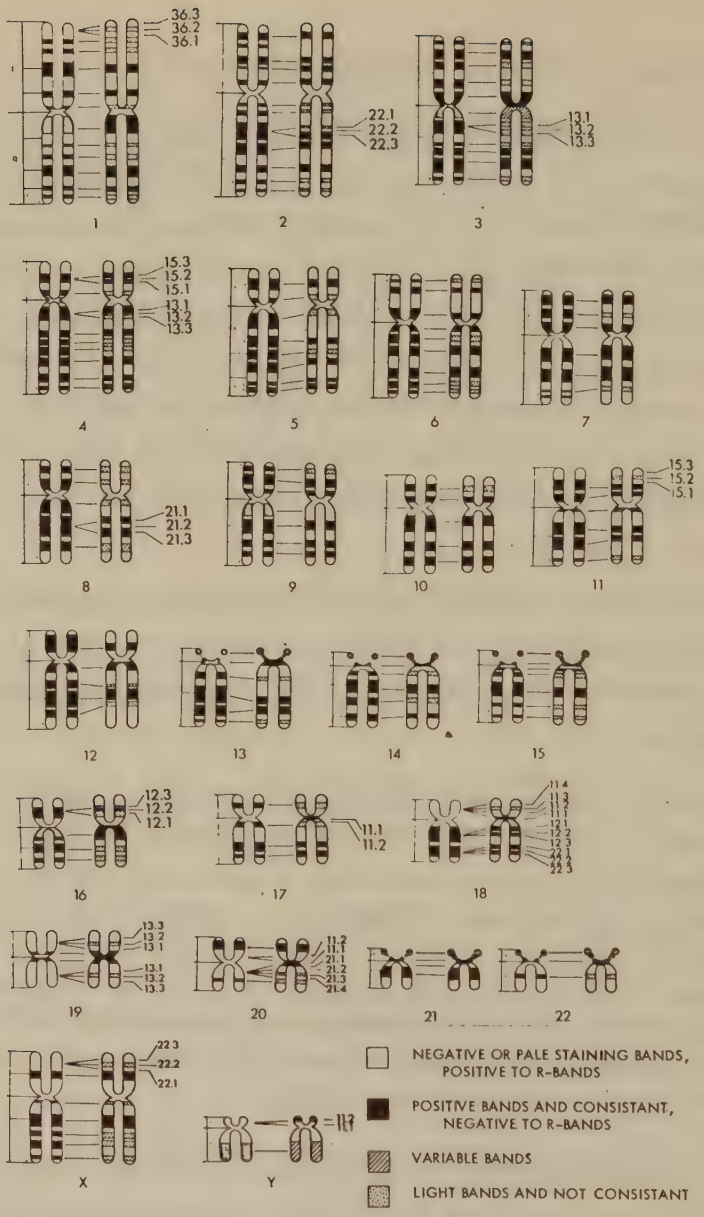


Abb.11: Das WINNIPEG-Schema rechts im Vergleich zum Paris-Schema links; aus RAY et al. 1975.

2.3.3.2. G- UND R-BANDENSCHEMATA FRÜHERER MITOSESTADIEN

Die bereits 1971 von SCHNEDL (s.2.3.1.2.b) beobachtete zunehmende Differenzierung der Bandenmuster in früheren Mitosestadien veranlaßte zu weiteren Untersuchungen über die Ausprägung der Bandenmuster in Prometa- und Prophasestadien und zur Erarbeitung erweiterter Schemata.

2.3.3.2.a) PRIEUR M., DUTRILLAUX B., LEJEUNE J. (1973)

Anhand von Untersuchungen an über 1ooo Patienten erstellten PRIEUR et al.1973 ein erstes R-Banden-Schema für Metaphasechromosomen (s.Abb.12a) (abgesehen von dem auch auf R-Bandenmustern beruhenden Paris-Schema). Darüberhinaus wurden aus demselben Patientengut 2o Prometaphasen analysiert und die wesentlichen Ergebnisse in einem Prometaphase-Schema zusammengefaßt (s.Abb.12b). Meßverfahren über die Auswertungsmethode wurden nicht angegeben.

Wie auch bei der schematischen Darstellung des "Durchschnittsmusters" von BIGGER et al.1972 (s.2.3.1.2.d) vermittelten die abgerundeten Banden dieser Schemata ein realistischeres Bandenbild. Dem Schema der 24 Chromosomentypen wurde jeweils als Beispiel eine entsprechende Chromosomenfotografie gegenübergestellt.

Die R-Bandenschemata von PRIEUR et al.1973 stellten die im Paris-Schema hell gefärbten Banden dunkel dar und umgekehrt (s.2.2.2.1.). Unterschiede zum Paris-Schema hinsichtlich der Bandenzahl führten PRIEUR et al.1973 im Metaphase-Schema

auf Bandenverschmelzung, im Prometaphase-Schema auf Bandenaufspaltung zurück. Gegenüber den 322 Banden des Paris-Schemas konnten sie im Metaphase-Schema 271 Banden, im Prometaphase-Schema 462 Banden beobachten.

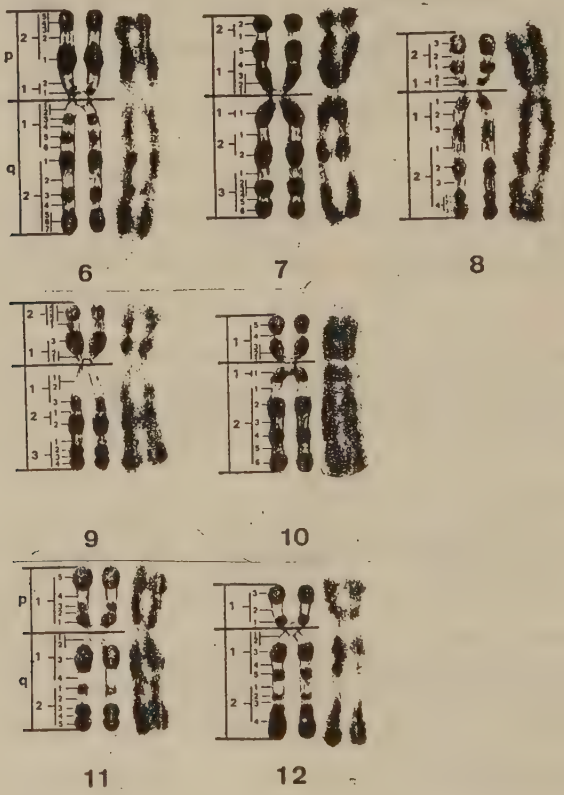


Abb.12a: Erstes R-Bandenschema von Metaphasechromosomen am Beispiel der Chromosomen 6 - 12; aus PRIEUR et al. 1973;

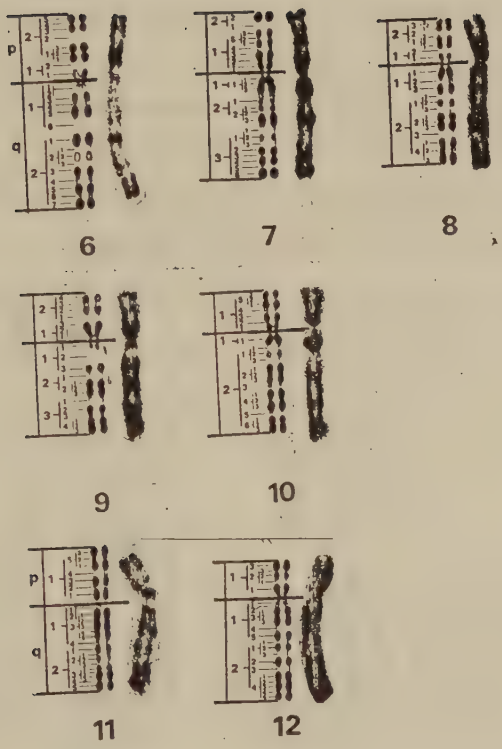


Abb.12b: Erstes R-Bandenschema von Prometaphasechromosomen am Beispiel der Chromosomen 6 - 12; aus PRIEUR et al. 1973;

2.3.3.2.b) SKOVBY F. (1974)

An Prometaphasen von 2 Patienten beobachtete SKOVBY 1974 R-Banden, die im PRIEUR-Schema 1973 nicht aufgeführt waren und veranschaulichte sie in einem erweiterten Schema (s.Abb.13).

Die Art der schematischen Darstellung war dabei vom PRIEUR-Schema übernommen, ebenso die Klassifizierung nach der Parisnomenklatur. Insgesamt waren 606 Banden zu sehen, gegenüber den 462 Banden des PRIEUR-Schemas. Die Zunahme der Banden erklärte SKOVBY mit der höheren Bandenauflösung in der Prometaphase. Insbesondere beobachtete er eine bessere Auflösung im Zentromerbereich und an den terminalen Regionen.

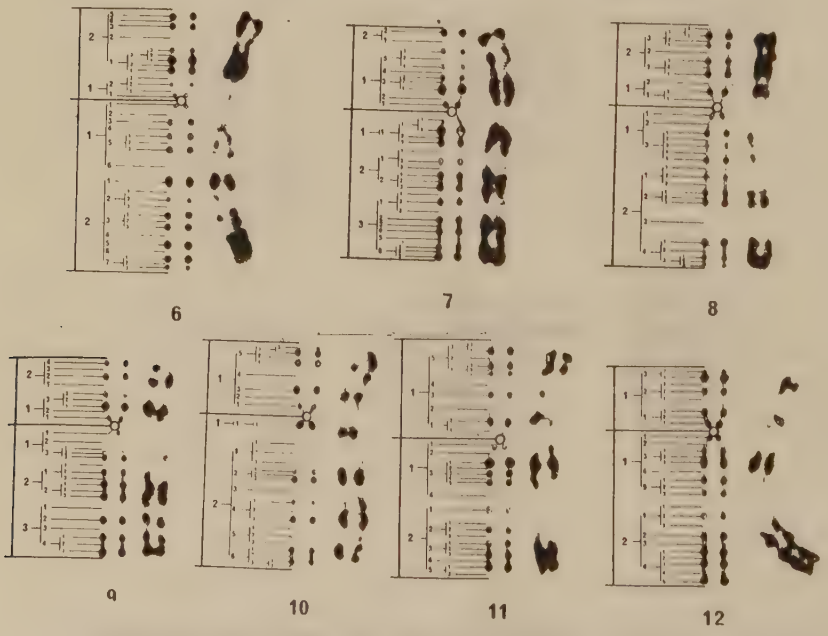


Abb.13: R-Bandenschema von Prometaphasechromosomen am Beispiel der Chromosomen 6 - 12. Aus SKOVBY 1974.

2.3.3.2.c) YUNIS J.J. und SANCHEZ O. (1974)

YUNIS und SANCHEZ verfolgten den zunehmenden Aufspaltungsvorgang der G-Bandenmuster an 2o Metaphasen, 2o Prometaphasen und 1o Prophasen hervorragender Qualität. Sie konnten zeigen, daß sich die Banden der Metaphasechromosomen aus zahlreichen feinen Unterbanden der Prophasechromosomen zusammensetzten und bezeichneten diese nach der Paris-Nomenklatur.

Aus den Ergebnissen wurde ein Prophase-Schema erstellt und dem Paris-Schema gegenübergestellt (s.Abb.14). Meßverfahren für die Erarbeitung des Schemas wurden nicht angegeben. Bei der Auswertung ergab sich bei 322 Banden in der Metaphase (Anzahl der Paris-Banden) eine Zunahme bis zu 45o Banden in der Prometaphase und bis zu 1ooo Banden in der späten Prophase.

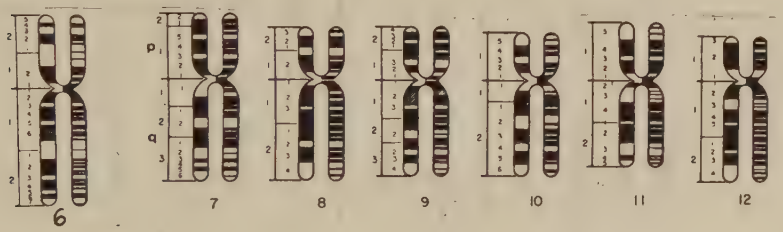


Abb.14: Vergleich der G-Bandenmuster in der Metaphase (linkes Chromatid) mit der späten Prophase (rechtes Chromatid) am Beispiel der Chromosomen 6 - 12; aus YUNIS und SANCHEZ 1974).

2.3.3.2.d) BIGGER T.R.L. und SAVAGE J.R.K. (1975)

Diese Arbeitsgruppe untersuchte 2o Mitosen vom Stadium der Prometaphase bis zur Prophase und stellte die entsprechenden G-Bandenmuster in einem Prometaphase-Schema und einem Prophase-Schema dar (s.Abb.15). Ausgehend von ihrem 1972 erarbeiteten G-Banden-Metaphase-Schema (s.2.3.1.2.d) versuchte sie unter Beibehaltung ihrer eigenen Nomenklatur die Aufspaltungen der Banden anhand der drei nebeneinander angeordneten Schemata aufzuzeigen. Unter Berücksichtigung dieser Nomenklatur, in der nur dunkle Banden gewertet werden, erhöhte sich die Zahl der dunklen Banden von 153 in der Metaphase auf 692 in der Prophase.

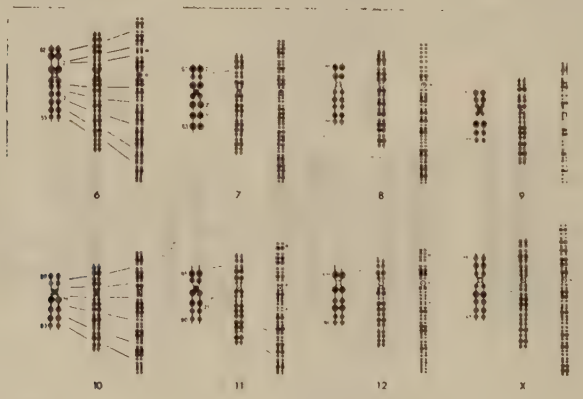


Abb.15: Aufspaltung der G-Banden von Metaphase (HARWELL-Schema links) über Prometaphase (mittleres Schema) bis zur Prophase (rechtes Schema); aus BIGGER und SAVAGE 1975.

2.3.4. ZUSAMMENFASSUNG

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die bisherigen Ergebnisse der verschiedenen G-Bandenschemata von Metaphasechromosomen in der Darstellung von Zentromer, variablen und terminalen Regionen und Landmarken (soweit angegeben). Dunkle Anfärbung wurde mit d, helle mit h und variable mit V gekennzeichnet.

Insgesamt zeigten sich bei der Zentromerdarstellung sehr widersprüchliche Ergebnisse. Hinsichtlich der variablen und terminalen Regionen konnte man bei einigen Arbeiten übereinstimmende Befunde erkennen.

Die beobachtete Variabilität der Bandenmuster versuchten BIGGER et al.1972 und SEABRIGHT et al. 1975 mit der Anfertigung von mehreren schematischen Darstellungen für die einzelnen Chromosomentypen auszudrücken (bei BIGGER et al.1972 zwei Schemata für komplexe und durchschnittlich sichtbare Bandenmuster, bei SEABRIGHT et al.1975 noch ein drittes, einfaches Schema für stärker kontrahierte Metaphasechromosomen). SCHNEDL 1971 veranschaulichte die Veränderung der Bandenmuster bei zunehmender Kontraktion der Chromosomen in einem Schema, indem er die Verschmelzungstendenz von Banden mit "Klammern" am Rande der betreffenden Banden anzeigte.

Als mögliche Ursache der abweichenden Ergebnisse waren die anfangs aufgetretenen Zuordnungsschwierigkeiten für die einzelnen Chromosomen, die verschiedenen Färbetechniken, der unterschiedliche Spiralisationsgrad und das unterschiedliche me-

thodische Vorgehen zur Erstellung der Schemata in Betracht zu ziehen.

Verfasser	Zentromer	Variable Region	Terminale Region	Landmarken
DRETS et al.1971	d	q12 in 1 u.16 d; in 9 h;	überwiegend h	vorwiegend breite,helle Banden
SCHNEDL 1971	h:2,9,13 sonst d	q12 in 1,9, 16 wie DRETS	wie DRETS	0
SHIRAISHI et al.1972	d	q12 in 1,9, 16 wie DRETS	überwiegend d	0
BIGGER et al.1972	d	q12 in 1,9, 16 wie DRETS	wie DRETS	vorwiegend dunkle Banden
CHRZ et al.1972	exakte Bestimmung nicht mgl.	d	h	0
Paris-Schema 1971	überwiegend h	s.[X]	h	Zentromere Chr.-enden, prominente d u. h Banden
SEABRIGHT et al.1975	d	q12 in 1,9, 16 wie DRETS	h	0
RAY et al. 1975	überwiegend h	q12 in 1,9, 16 wie DRETS; 3q11 u.Yq12 V	h	vorwiegend d Banden

X Variable Regionen des Paris-Schemas:
q12 von 1,9,16,Y; q11 von 3,4,13; p11 von 4,13,14,15,21,22, sowie die Satelliten der akrozentrischen Chromosomen.

3. PROBLEMSTELLUNG

Die G-Bandenmethode nach WALTHER unterscheidet sich grundsätzlich von den bisher erprobten Bandentechniken, da sie, als vorbehandlungsfreie Methode, keine denaturierenden Schritte enthält.

Die bis zu Beginn der Arbeit veröffentlichten Bandenschemata wiesen bereits vom optischen Gesamteindruck, vor allem aber bei genauerer Betrachtung der Muster erhebliche Differenzen untereinander und gegenüber dem international akkzeptierten Paris-Schema auf.

Daher stellten sich uns für die Untersuchung der neu eingeführten G-Bandenmethode nach WALTHER folgende Fragen:

1. Ergibt die WALTHER-Färbung einheitliche Bandenmuster?
2. In welcher Häufigkeit lassen sich die einzelnen Banden nachweisen?
3. Welche Lage und Ausdehnung sind für die einzelnen Banden charakteristisch?
4. Ob und inwieweit ist eine individuelle Variabilität von Banden feststellbar?
5. Welche Beschaffenheit zeigen Zentromer-Region, Telomer-Region, Landmarken?
6. Welche Banden neigen zu Aufspaltungen in Unterbanden oder zu Verschmelzungen mit angrenzenden Banden?
7. Worin bestehen die Abweichungen vom Schema der Paris-Nomenklatur und wie lassen sie sich erklären?

Zur Beantwortung dieser Fragen wird eine Reihenfolge von Bandenfärbungen an Metaphasechromosomen von 75 Individuen

herangezogen. Unter Verzicht auf meßtechnische Verfahren werden Häufigkeit und Ausprägung der einzelnen Banden erfaßt und daraus für die 24 Chromosomentypen ein Schema erarbeitet. In einem detaillierten Vergleich mit dem Paris-Schema werden Übereinstimmungen und Abweichungen der einzelnen Banden ausführlich erläutert.

4. MATERIAL UND METHODIK

4.1. MATERIAL

Ausgangsmaterial für die vorliegenden Untersuchungen waren die ersten 1oo aufeinanderfolgenden Fälle aus dem Patientengut des Chromosomenlabors der Kinderpoliklinik München, bei denen die G-Bandenfärbung nach WALTHER routinemäßig neben der konventionellen Färbung durchgeführt wurde. Bei 75 Lymphozytenkulturen lagen sowohl konventionell, als auch nach der WALTHER-Methode gefärbte Präparate vor. Von den übrigen 25 Fällen waren in 17 Fällen wegen geringen Kulturwachstums nur konventionell gefärbte Präparate vorhanden. In 8 Fällen waren wegen nicht erfolgten Kulturwachstums keine Präparate vorhanden. Diese Kulturen konnten nicht wiederholt werden. Insgesamt diente von den 75 Fällen jeweils 1 Metaphase zur Auswertung.

4.2. CHROMOSOMENPRÄPARATION

Die Chromosomenpräparation erfolgte nach einer Modifikation der Mikromethode von ARAKAKI und SPARKES (1963):

Inkubation von o,1 ml heparinisiertem Kapillarblut in 5 ml sterilem Chromosomenmedium (Earle's B.S.S. 1%; W/O Phenol Red; Batsch N^{o} 4o1 S) von GIBCO bei 37^{o}C für 68 Stunden. Zugabe von o,oo1 mg Colcemid (CIBA) drei Stunden vor Kulturabbruch.

Zum Kulturabbruch wurde 5 min bei 8oo U/min zentrifugiert, der Überstand verworfen und zur Quellung der Zellen mit hypotoner o,o75 M KCL-Lösung versetzt. Anschließend erneutes Zentrifu-

gieren, s.o. und Absaugen des Überstands.

Zur Fixierung der Zellen Auffüllen des Zellsediments mit frischem Fixativ (3 ml Methanol/ Eisessig im Verhältnis 3:1) auf o,5 - 1,o ml und je nach Erfordernis zwei-dreimaliger Fixativwechsel.

Sofortige Färbung des fixierten Materials oder Lagerung bei 4°C bis unmittelbar vor der Färbung. Für die Färbung wurden 3 -5 Tropfen der auftropffertigen Zellsuspension mit einer Pasteurpipette auf einen entfetteten und eisgekühlten Objektträger getropft. Trocknung des Präparates an Luft oder auf mäßig erwärmter Heizplatte (4o°C, 1 min.).

4.3. G-BANDENFÄRBUNG NACH WALTHER

Die G-Bandendarstellung erfolgte nach der vorbehandlungsfreien Methode nach WALTHER (1974):

Farblösung:

1 Teil	Leishman Eosin-Methylenblau-Lösung aus Trockensubstanz Merck Art.1350	o,12 g
	Methanol bei 4o°C	ad 1oo ml
4 Teile	Sörensen-Puffer pH 6,8	
aus	o,o6 M Na_2HPO_4	49 ml
	o,o6 M KH_2PO_4	ad 1oo ml

Die Präparate wurden 15-3o min in hohen Färbeküvetten im Farbstoff/Puffer-Gemisch inkubiert. Trotz sorgfältiger Einhaltung der angegebenen Behandlungsschritte war eine Standardisierung nicht möglich. Zur Erreichung des bestmöglichen Färbeergebnisses

mußten sowohl Färbedauer, als auch Farbstoffkonzentration variiert werden. Die Überprüfung des Färbeergebnisses erfolgte durch zwischenzeitliche mikroskopische Kontrollen.

Anschließend wurden die Präparate zweimal in aqua dest. gespült, bei 4o°C getrocknet und mit Eukitt eingedeckt.

Nachuntersuchungen der auf diese Weise präparierten und gefärbten Chromosomen ergaben auch in einem Zeitraum von 5 Jahren keine Veränderungen in der Qualität der Bandenmuster.

Die mikroskopische Beobachtung der Metaphasechromosomen wurde mit einem Leitz Ortoplan Mikroskop bei 1ooo-facher Vergrößerung durchgeführt.

Geeignete Mitosen wurden mit einem Dokumentenfilm von Agfa Gevaert (Agfa Ortho 25 Professional) unter Verwendung eines Öl-Immersions-Objektives (Phaco/Öl 1oo/1.3o) fotografiert und davon Schwarz-Weiß-Abzüge auf Agfa BN 1 angefertigt.

4.4. Auswertung der Bandenmuster und Erstellung der Chromosomenschemata

Für die Auswertung der Bandenmuster und Erstellung der Schemata wurde folgendermaßen vorgegangen:

1. Im Rahmen der Routineauswertung waren im Chromosomenlabor von den 75 nach der WALTHER-Methode gefärbten Fällen jeweils 8 Metaphasen fotografiert und analysiert worden. Von den beiden qualitativ besten Mitosen waren Karyogramme angefertigt worden. Davon diente eines der vorliegenden Arbeit

zur Auswertung. In Fällen, in denen qualitativ schlechte Mitosen erfaßt waren, wurden die entsprechenden Präparate nochmals durchgesichtet, Mitosen nachfotographiert und die beste davon ausgewertet. Zur optimalen fotographischen Darstellung der einzelnen Chromosomen wurden von einer Mitose meist mehrere Abzüge unterschiedlicher Belichtungsdauer angefertigt.

2. Aus diesen 75 Karyogrammen wurden jeweils die Autosomenpaare 1-22, sowie die Gonosomen X und Y entnommen und auf großen Tafeln zusammengestellt(s.Abb.16). Somit standen zur Auswertung 24 Tafeln zur Verfügung(s.auch Anhang).

Von zwei Beobachtern wurde getrennt voneinander das Bandenmuster jedes Chromosoms auf ein aufgelegtes Transparentpapier durchgezeichnet(s.Abb.17). Auf diese Weise konnten erste Erfahrungen über die verschiedene Ausprägung der Bandenmuster von Autosomen und Gonosomen gewonnen werden.

Anschließend wurden die Ergebnisse beider Beobachter gemeinsam gewertet: es wurde versucht, die Banden jedes Chromosoms denen des Paris-Schemas zuzuordnen und nach Lage und Ausdehnung in ein Paris-Schema einzutragen(s.Abb.18). Bei der Zuordnung war eine sichere Entscheidung nicht immer möglich, z.B. bei Verschmelzungen, welche der im Paris-Schema aufgeführten Banden jeweils verschmolzen waren oder bei Aufspaltungen, welcher Bande des Paris-Schemas die jeweiligen Unterbanden angehörten.

Die beobachtete Variabilität der Bandenmuster unter den Paaren der verschiedenen Individuen wurde in den zahlreichen unterschiedlichen Eintragungen in das Paris-Schema deutlich

Abb.16: Zusammenstellung von A1-Chromosomenpaaren der ersten 1oo aufeinanderfolgenden Lymphozytenkulturen, die nach der WALTHER-Methode gefärbt wurden.

□ geringes Kulturwachstum, nur konventionelle Färbung

■ kein Kulturwachstum, keine Präparate vorliegend

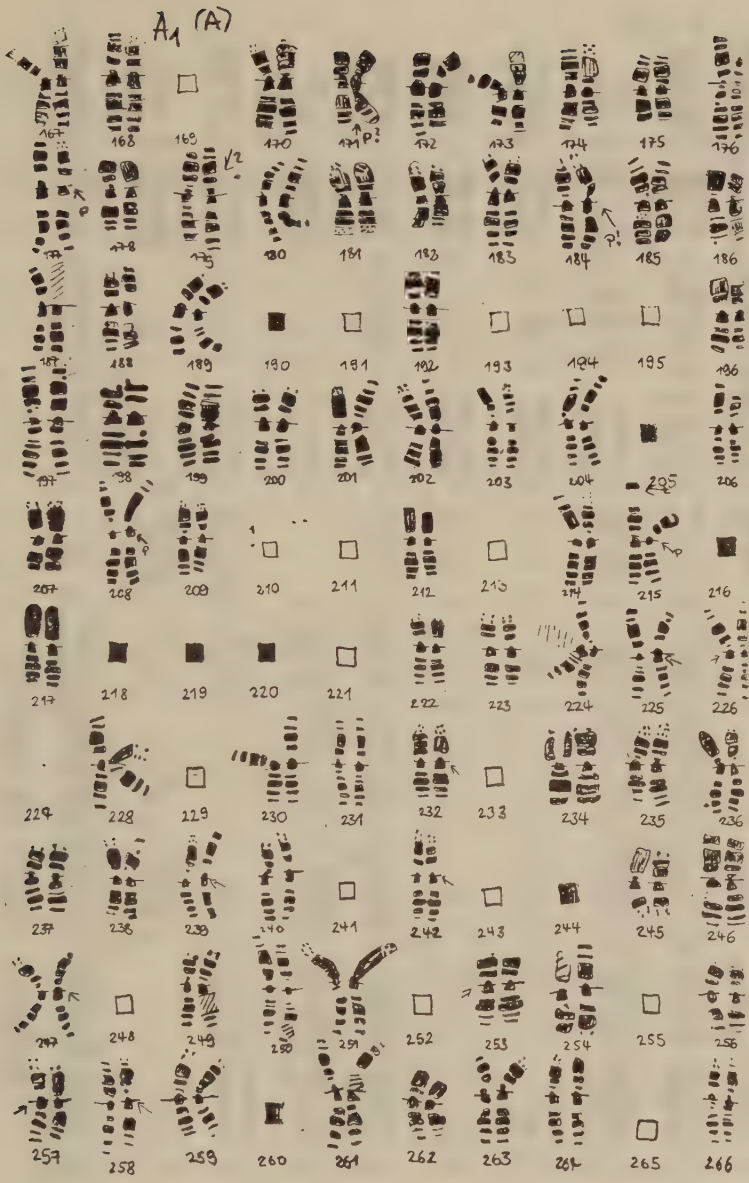


Abb.17b: Aufzeichnungen der beobachteten Bandenmuster der A1-Chromosomen auf aufgelegtes Transparentpapier

(A) = Beobachter 2

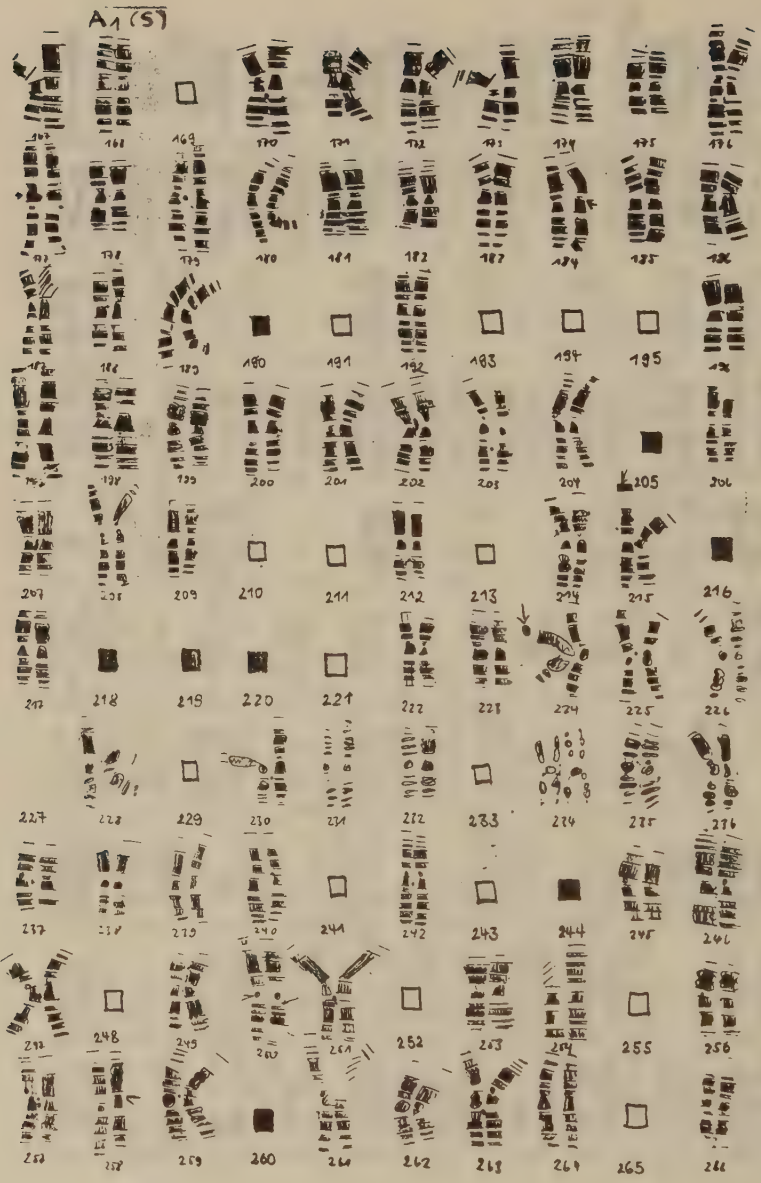


Abb. 17a: Aufzeichnungen der beobachteten Bandenmuster der A1-Chromosomen auf aufgelegtes Transparentpapier (S) = Beobachter 1

(s.Abb.18). Abweichungen der Muster unter den beiden Homologen eines Paares wurden durch unterschiedliche Eintragung in die beiden Chromatiden des Schemas ausgedrückt. Die insgesamt sehr selten auftretende Variation in den Bandenmustern beider Chromatiden eines Chromosoms (vor allem bei Verdrehungen und Überlagerungen sichtbar) kam im Schema nicht zur geltung.

Wie im Paris-Schema wurde mit der Einzeichnung von schwarzen und weißen Banden nur zwischen dunklen und hellen Banden unterschieden. Abstufungen verschiedener Grautöne wurden nicht berücksichtigt.

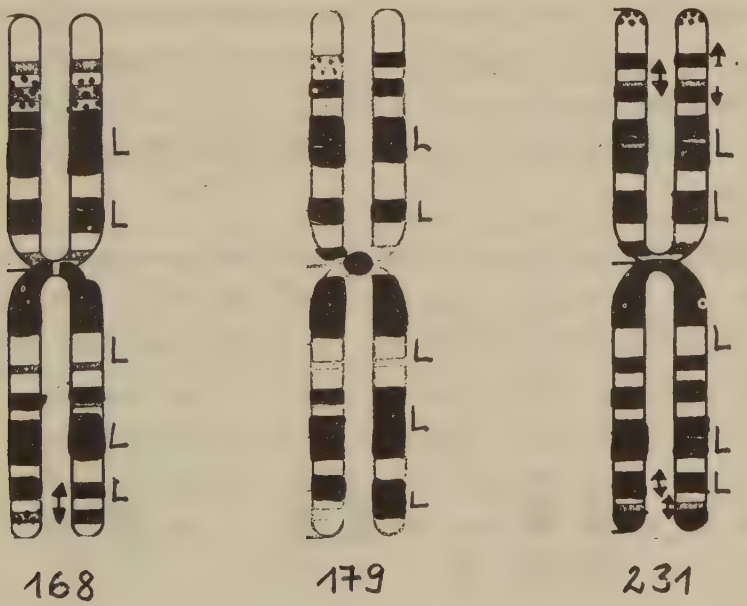


Abb.18:Eintragungen der beobachteten Bandenmuster ins Paris-Schema. 3 Beispiele unterschiedlicher Bandenmuster von A1-Chromosomen.

3. Nach folgenden Kriterien wurden die Bandenmuster qualitativ erfaßt:

a) Veränderungen zum Paris-Schema in Ausdehnung und Lage der Banden wurden nach Augenmaß, unter Berücksichtigung der Chromosomenlänge, entsprechend breiter bzw. schmäler, weiter proximal bzw. distal vom Zentromer eingezeichnet und mit folgenden Symbolen versehen:

breiter als im Paris-Schema ↕
schmäler " " " " ⧗
weiter proximal zum Zentromer ↑
weiter distal " " ↓

b) Besondere Beachtung wurde auf die unterschiedliche Ausprägung der variablen Banden gelegt; im Falle einer deutlich erkennbaren Differenz in Ausdehnung oder Anfärbung wurden die entsprechenden Banden mit dem Symbol V gekennzeichnet.

c) Die Landmarken wurden hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit zur Untergliederung der Chromosomen und ihres Werts zur Identifizierung beurteilt. Je nachdem, ob sie zur Erkennung nützlich oder weniger nützlich waren, wurden sie mit den Symbolen L oder (L) bezeichnet. Besonders charakteristische und prominente Banden, die sich bei den nach WALTHER gefärbten Chromosomen durch ihre gute Abgrenzbarkeit hervorhoben, versahen wir mit dem Zeichen ▯.

d) Nach den beobachteten Zentromerdarstellungen wurden fünf verschiedene Konfigurationen unterschieden: punktförmig,

hantelförmig, dreiecksförmig zum langen Arm gerichtet, dreiecksförmig zum kurzen Arm gerichtet und hell angefärbt(s.Abb. 19)

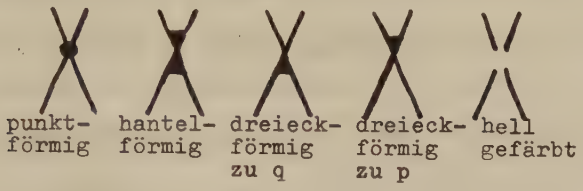


Abb.19: Schematische Darstellung der 5 beobachteten Zentromerkonfigurationen.

e) Im Unterschied zu den hell dargestellten terminalen Banden im Paris-Schema, konnten wir drei verschiedene Typen von terminalen Regionen unterscheiden(s.Abb.2o):

Die terminalen Banden waren als hellere Ausläufer der proximal angrenzenden dunklen Bande angedeutet (s.Beispiel 1);

Die terminalen Banden waren nicht dargestellt; die proximal angrenzende dunkle Bande schien den Abschluß des Chromatids zu bilden (s.Beispiel 2);

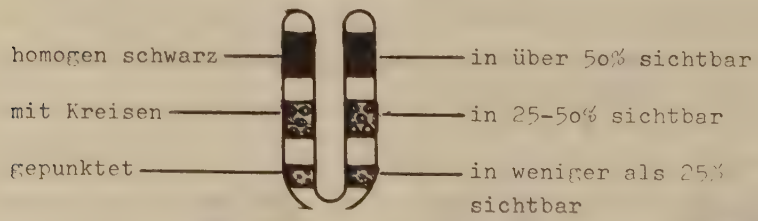
Eine, im Paris-Schema nicht aufgeführte dunkle terminale Bande war zu sehen (s.Beispiel 3).

Abb.2o: Schematische Darstellung der beobachteten terminalen Regionen.

f) Außer den bereits erwähnten zusätzlichen Banden im Terminalbereich traten zusätzliche Banden als Folge von Bandenaufspaltungen auf. Sie wurden nach der Paris-Nomenklatur bezeichnet und mit dem Symbol angezeigt. Umgekehrt wurden Banden, die deutliche Verschmelzungstendenzen erkennen ließen, mit dem Zeichen kenntlich gemacht (jeweils an der linken Seite des Schemas).

Im Hinblick auf Ausdehnung und Lage der Unterbanden in früheren Metaphasestadien orientierten wir uns an einem, aus den 1oo Fällen willkürlich ausgewählten Prometaphase-Beispiel.

4. Im Auswertungsverfahren wurde ausgezählt, wie häufig die einzelnen Banden sichtbar waren. Danach wurde ein Schema erarbeitet, das die beobachteten Bandenmuster in ihrer Häufigkeit veranschaulichte. Die unterschiedliche Häufigkeit, mit der die einzelnen Banden auftraten, kam im Schema in drei verschiedenen Abstufungen zum Ausdruck:



Die prozentuale Auswertung der beobachteten Zentromerkonfigurationen wurde getrennt davon durchgeführt.

5. ERGEBNISSE

TYP UND VARIABILITÄT DER G-BANDENMUSTER, SCHEMA UND BESCHREIBUNG

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse für die 24 Chromosomentypen dargelegt:

A kennzeichnet das bei fraglicher Bandenaufspaltung bzw.-verschmelzung berücksichtigte Prometaphasebeispiel.

B zeigt eine Gegenüberstellung unserer schematischen Darstellung (rechtes Schema) mit dem Paris-Schema (linkes Schema).

In C ist die prozentuale Auswertung der beobachteten Zentromerkonfigurationen gegeben.

In D sind einige charakteristische Metaphasebeispiele aus den 1oo Fällen (167-266) aufgeführt. Die unter den Beispielen angegebenen Zahlen entsprechen den jeweiligen Fallnummern. Pathologische Befunde und Normvarianten, die unter den 1oo Fällen festgestellt werden konnten, werden ergänzend aufgezeigt.

Die zugehörige Beschreibung gibt unter Bezugnahme auf das Paris-Schema unsere Beobachtungen über Ausprägung und Häufigkeit der Banden wieder und versucht dies an den aufgeführten Chromosomenbeispielen (D) zu verdeutlichen. Dabei bezeichnet a jeweils das linke, b das rechte Homologe des betreffenden Chromosomenpaares. Die Banden werden vom Zentromer (= Z) distalwärt nacheinander für den kurzen und den langen Arm des Chromosoms abgehandelt. Zentromer und terminale Region werden gesondert beschrieben.

CHROMOSOM 1

p:

Bande p12: in 21% als schmale dunkle Bande sichtbar(176,264); vereinzelt mit Z zu einem dunkel gefärbten Bereich verschmolzen(242,266b);

Landmarken p21 u. p31: durchwegs als dunkle Banden dargestellt, in 1o% läßt sich eine Auflösung von p31 in zwei dunkle und eine dazwischenliegende helle Bande erkennen = p311.1,31.2,31.3 (176,231);

Bande p22: Die zwischen beiden Landmarken gelegene helle Bande p22 wirkt im Vgl. zum Paris-Schema oft relativ schmal; teils ist sie in Form einer Einschnürung nur angedeutet(176);eine relativ schmale p22 findet sich auch in A;

Abschnitt p32-p36: in 31% als diffuser, von p31 aus allmählich heller werdender Bereich dargestellt(168); in 26% ist eine dunkle Bande sichtbar(264); in 24% sind alle Banden abgrenzbar(176,231). Die Position der dunklen Banden p33 und p35 weicht mehrfach von der im Paris-schema vorgegebenen ab: p33 schließt dicht an die Landmarke an, während der Abstand zur Bande p35 relativ groß ist; anders als im Paris-Schema wirkt die helle Bande p34 breiter als p32(231);

terminaler Bereich: in 1o% weist p distal eine schmale dunkle Bande auf (231,266);sie ist auch in Ab zu sehen. Im übrigen wie in Abschnitt p32-p36 beschrieben;

Z und q12: Im Gegensatz zum Paris-Schema ist die Z-Region durchwegs dunkel angefärbt(s.auch A) und häufig mit dem zentromernahen Heterochromatin (=q12) zu einem dunklen Bereich verschmolzen(264). Innerhalb von q12 ist teilweise eine Untergliederung zu sehen(266), s.auch A; vielfach besteht eine Längendifferenz von q12 zum zugehörigen Homologen (A_1-Polymorphismus). In 1o% betrug die Längendifferenz der q12-Bande mindestens das Doppelte des Homologen, s.Beispiel 257.
In 2o% ist Z von q12 abgrenzbar(176a,261a);

q:

Landmarke q21: durchwegs als helle breite Bande zu sehen;

Bande q22: in 9% als schmale dunkle Bande sichtbar(231), ansonsten nicht als Bande abgrenzbar;

Abschnitt q22-q24: in 83% alle Banden abgrenzbar; manchmal Verschmelzung der Banden q24 und q31;

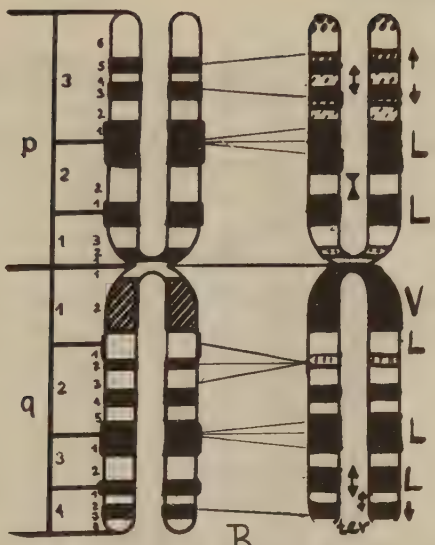
Landmarke q41: oft breiter dargestellt als q43(176,266) s.auch A, während im Paris-schema q41 und q43 gleich breit eingetragen sind;

Bande q42: oft breiter als q32 ausgeprägt(168,264);

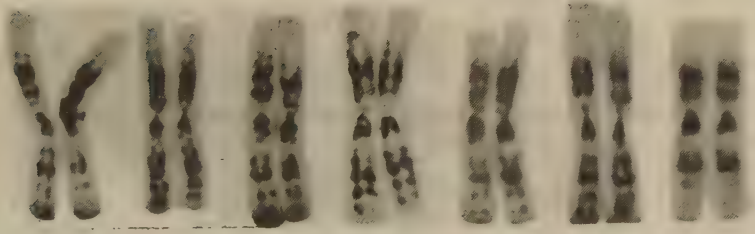
terminaler Bereich: in 49% scheint die dunkle Bande q43 terminal gelegen(231,176), s. auch A; im übrigen hell auslaufender Bereich;

CHROMOSOM 1

A

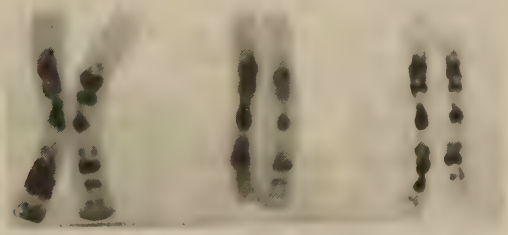


B



261 231 266 176 264 242 168

D



1 – Polymorphismus (257)

C

CHROMOSOM 2

p:

Bande p12: in 65% als dunkle Bande abgrenzbar(231,261); in 30% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(266a);

Bande p13: die helle Bande ist durchwegs als charakteristisches Merkmal zu sehen, s.auch A;

Abschnitt p14-p16: nur vereinzelt wie im Paris-Schema zwei dunkle Banden sichtbar(18o); in 93% eine dunkle Bande sichtbar, vermutlich Verschmelzungsbande aus p14 und p16;

Landmarkep21: konstant abgrenzbare helle Bande;

Abschnitt: folgende Änderung zum Paris-Schema bzgl. Bandenausdehnung und -breite: in 54% zwei dunkle Banden gleicher Breite(176,231); die helle p23 dazwischen erscheint meist wesentlich breiter als im Paris-Schema, teilweise sogar breiter als die Landmarke p21(231,261), s.auch in A; in 25% distal eine dunkle Bande sichtbar(168); in 18% ist dieser Abschnitt als hell auslaufender Bereich ohne Bandengliederung dargestellt(242);

terminaler Bereich: in 25% wirkt q24 terminal(176), ansonsten q25 ausläuferähnlich schwach angedeutet(18o);

Z: in 73% dunkel angefärbt; davon in 43% gegen die angrenzenden Bandenabgesetzt(231,261); in 30% mit p12 verschmolzen(266a); in 21% helle Anfärbung;

q:

Region q1: in 42% sind q12 und q14 als dunkle Banden sichtbar (231,261), teils nur schwach angedeutet(242), teils ineinander übergehend(176a); in 35% eine dunkle Bande in der Mitte der Region, vermutlich Verschmelzung von q12 und q14(266a); in 18% ist ein schwach angefärbter Bereich ohne Bandengliederung zu sehen(168);

Landmarke q21: durchwegs abgrenzbare helle Bande;

Abschnitt q22-24: in 56% zwei dunkle, meist gleichbreite Banden sichtbar(176,261); vereinzelt auch drei dunkle Banden erkennbar(18o),s.auch Ab; in 35% Verschmelzung von q22 mit q24(168a); Insgesamt wirken beide Banden schmäler als im Paris-Schema vorgegeben, s.auch A;

Landmarke q31: durchwegs abgrenzbare helle Bande;

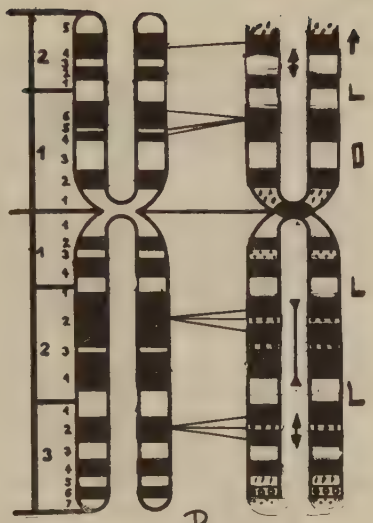
Bande q32: in 83% als dunkle und im Vgl. zum Paris-Schema breitere Bande sichtbar(261); zum Teil Aufspaltung in die Unterbanden q32.1,32.2,32.3 s.266b und A;

Abschnitt q22-q24: in 3o% alle Banden erkennbar(261,266); in 47% q34 abgrenzbar u.q36 angedeutet(168) in 17% ist eine Verschmelzungsbande zu sehen(242);

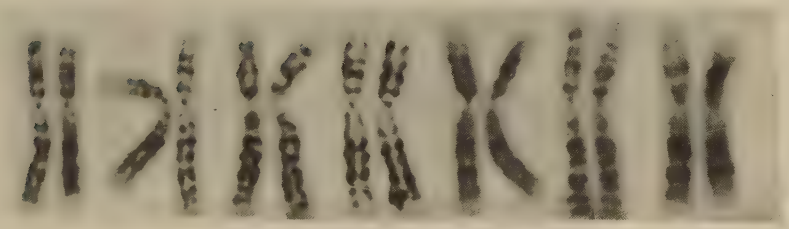
terminaler Bereich: in 25% wirkt q26 bzw. die Verschmelzungsbande q34-q36 terminal gelegen(261b);

CHROMOSOM 2

A



B



231 261 266 176 242 180 168

D

37% 12% — 30% 21%

C

CHROMOSOM 3

Landmarken p21 u.q21: durchwegs als helle Banden in der Mitte von p u.q abgrenzbar; wie im Paris-Schema ist q21 schmäler als p21 dargestellt; vereinzelt Aufspaltung von q21 in zwei helle und eine schmale dunkle Unterbande q21.1,21.2,21.3 (18o);

p:

Region 1:

Bande p11: in 16% als schmale helle Bande sichtbar(18o);

Bande p13: in 8% als Bande abgrenzbar(261);

Bande p12-p14: in 54% ist p14 durch eine schwächere Anfärbung von der dunklen p12 abgesetzt, wobei die helle Bande p13 nicht erkennbar ist(168); Im Übrigen Verschmelzung von p12-p14 zu einem dunklen Bereich(23ob,242a);

Region 2:

Bande p22-p24: die beiden dunklen Banden p22 u.p24 sind selten gegeneinander abgrenzbar(261), die helle p23 dazwischen ist in Form einer Einschnürung zum Teil nur angedeutet(176); meist ist eine dunkle Verschmelzungsbande dargestellt(242,168);

Bande p26: in 27% als dunkle Bande zu sehen(176, 261); in 43% mit p22-24 zu einem dunklen Bereich verschmolzen(23o), ansonsten nicht als Bande abgrenzbar;

terminaler Bereich: in 29% scheint die dunkle Bande p26 bzw. die Verschmelzungsbande p22-p26 terminal gelegen(176), s. auch A; ansonsten sieht man einen schwach angefärbten zunehmend heller werdenden distalen Bereich(23o);

Z und q11: Z ist überwiegend dunkel gefärbt und mit den dunkel gefärbten Banden p12 u.q11 zu einem einheitlich dunklen Bereich verschmolzen(23o); in 16% kann man eine sehr schmale helle Z-Zone sehen(p11?), (18o);

q:

Bande q12: selten als Bande abgrenzbar(261);

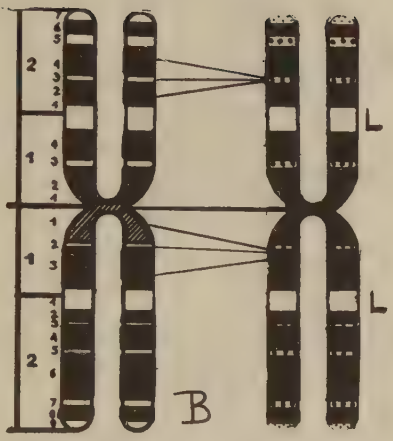
Bande q13: in 28% durch hellere Anfärbung von q11 abgesetzt, wobei die helle q12 nicht sichtbar ist (analog p14) (168); im übrigen sieht man einen dunklen Bereich, der sich von q11-q13 erstreckt(23o);

Region 2: in 11% sind alle im Paris-Schema vorgegebenen Banden sichtbar(261,18o); in 21% erkennt man zwei relativ breite dunkle Banden-vermutlich Verschmelzung von q22 mit q24 und q26 mit q28; ansonsten ist eine breite dunkle Bande (Verschmelzung von q22 bis q26 bzw.bis q28) sichtbar, die gemäß dem Paris-Schema breiter dargestellt ist, als die Verschmelzungsbande p22 bis p26 (168,23o);

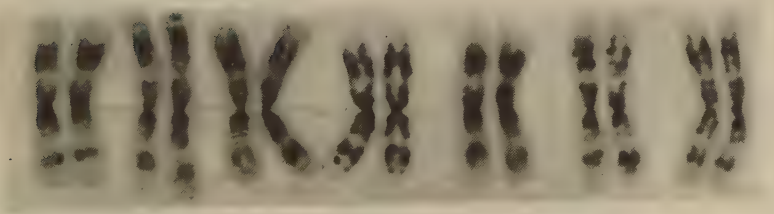
terminaler in 24% wirkt die dunkle Bande q28 bzw. die distale Verschmelzungsbande terminal gelegen(18oa); ansonsten sind schwach angefärbte, allmählich heller werdende Bereiche zu sehen(266);

CHROMOSOM 3

A



B



261 266 230 176 242 180 168

D

3% 74% -- -- 16%

C

CHROMOSOM 4:

p:

Bande p13: in 28% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(261b,266a);
in 2o% ist die Bande nicht abgrenzbar(168);
in 19% als dunkle Bande dargestellt(261a,176);

Bande p15: in 65% als dunkle Bande sichtbar (177,261);
in 18% ist p insgesamt dunkel angefärbt- Verschmelzung von p13 mit p15;
in 14% sieht man p als diffus angefärbten Bereich ohne Bandengliederung(23o);

terminaler Bereich: in 23% wirkt p15 terminal gelegen(176b,168b), ansonsten ist ein schwach angefärbter, hell auslaufender Bereich zu sehen(261,177);

Z: in 59% ist dieser Bereich dunkel angefärbt(177,263);
in 38% ist Z hell dargestellt(176);

q:

Bande q13: meist als dunkle Bande abgrenzbar; in 17% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(23o); in 5% Aufspaltung von q13 in die Unterbanden q13.1,13.2,13.3 (176,261);

Region 2:

Landmarke q21: meist als Bande abgrenzbar, jedoch nicht besonders prominent; in 1o% wegen Verschmelzung von q13 mit q22 nicht als Bande sichtbar; vereinzelt Aufspaltung von q21 in q21.1,21.2,21.3(177a,266b) s. auch A; im Vgl. zum Paris-Schema ist q21 oft breiter dargestellt, dagegen die dunkle Bande q13 relativ schmal(168);

Abschnitt q22-q28: in 6% sind alle Banden dieses Abschnitts abgrenzbar(176a,177b); in 14% sieht man drei ungefähr gleichbreite dunkle Banden(261b,266b); in 23% sind zwei dunkle Banden zu sehen, wobei die proximal gelegene schmäler, die distal gelegene breiter ist(23oa,168a); in 34% zwei dunkle Banden gleicher Breite sichtbar(23ob); in 16% sieht man einen einheitlich dunklen Bereich;

Region 3:

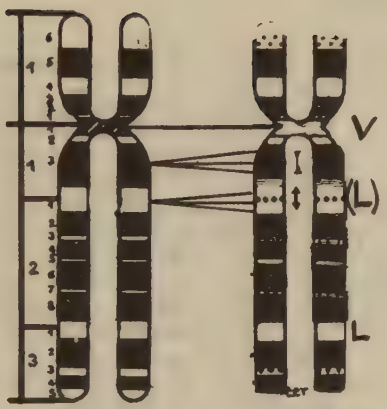
Landmarkeq31: meist als helle Bande abgrenzbar;

Bande q32-q35: in 59% Verschmelzungsbande von q32 mit q34(242,23o);
in 28% sind zwei dunkle Banden zu sehen, davon in 19% zwei gleichbreite Banden(266), s.auch A, in 9% ist wie im Paris-Schema die Bande q32 breiter dargestellt als die Bande q24;

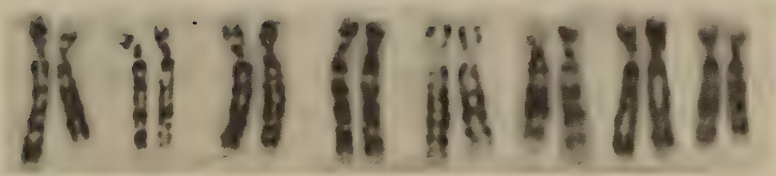
terminaler Bereich: in 55% wirkt q34 bzw. die Verschmelzungsbande q32 -q34 terminal gelegen(261);

CHROMOSOM 4

A



B



261 177 266 263 176 168 242 230

D

23% 14% 3% 19% 38%

C

CHROMOSOM 5

p:

Bande p12: in 27% als dunkle Bande abgrenzbar(266b,231a) s.auch A;
in 24% ist p12 nicht von Z abgrenzbar(261,263);
in 29% ist p12 nicht als dunkle Bande dargestellt, dabei wirkt die distal anschließende Bande p13 oft relativ breit(168);

Bande p14: in 83% als dunkle Bande abgrenzbar;
in 13% ist p dunkel oder nur schwach angefärbt ohne Bandengliederung;

terminaler Bereich: in 34% scheint p14 terminal gelegen(263), ansonsten sieht man einen schwach angefärbten, hell auslaufenden Bereich:

Z: in 69% dunkle Anfärbung von Z;

q: in 27% hell dargestelltes Z;

Bande q12: in 47% abgrenzbare dunkle Bande(263,266);
in 25% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(23o);
in 16% nicht als Bande dargestellt;

Bande q13: im Vgl. zum Paris-Schema ist die Bande q13 oft breiter dargestellt, dagegen die angrenzende q12 relativ schmal(263);

Abschnitt q14-q23: in 38% drei gleichbreite dunkle Banden sichtbar (261,263,231);
in 36% Verschmelzung von q14-q23 zu einem dunklen Bereich(23o);
in 2o% sind zwei dunkle Banden abgrenzbar;

Landemarke q31: durchwegs als helle Bande abgrenzbar, gemäß dem Paris-Schema ist sie breiter ausgeprägt als die Landmarke q31 in Chromosom 4;

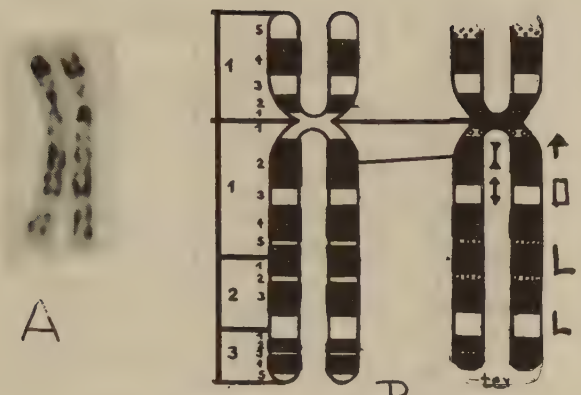
Abschnitt q32-q35: in 32% zwei dunkle Banden sichtbar, teil gleicher Breite (261), teils mit einer breiteren proximal gelegenen Bande (18o);
in 34% ist eine breite dunkle Bande dargestellt, - vermutlich Verschmelzung von q32 mit q34(231b);
in 25% ist distal eine relativ schmale dunkle Bande zu sehen, vermutlich ist hier nur q34 (nicht q32) als dunkle Bande dargestellt(23ob,263a);
in 6% diffuse Anfärbung der Region 3(168a);

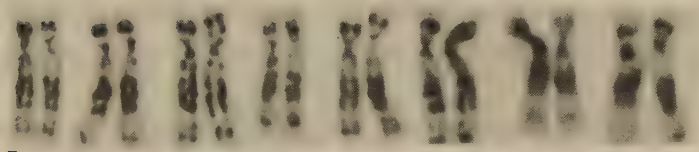
terminaler Bereich: in 6o% wirkt die distale dunkle Bande terminal gelegen(263);

Im Vergleich zu 4q32-q34 wirkt der Abschnitt 5q32-q35 schwächer angefärbt, was die Unterscheidung erleichtern kann.

Beispiel 232 zeigt eine balancierte Translokation t(1op-;5p+);

CHROMOSOM 5





D

balancierte Translokation t(1op-; 5p+)
(232)

C

CHROMOSOM 6

p:

Bande p12: in 52% als dunkle Bande abgrenzbar(242); in 48% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(168);

Region 2:

Landmarke p21: durchwegs als charakteristische helle Bande sichtbar; vereinzelt Auflösung in zwei helle und eine dunkle Unterbande(18ob), s.auch A;

Bande p22-p24: in 13% sind beide dunklen Banden abgrenzbar(18o, 231); in 24% ist eine relativ breite dunkle Bande zu sehen-vermutlich Verschmelzung von p22 und p24, wobei die helle p23 nur noch in Form einer Einziehung angedeutet ist(176,264a); in 63% ist eine relativ schmale dunkle Bande dargestellt, vermutlich p22(263,168);

terminaler Bereich: in 26% wirkt die distale dunkle Bande terminal gelegen, im übrigen schwach angefärbter, allmählich heller werdender Bereich;

Z: in 52% ist eine schmale helle Z-Region erkennbar (18oa,242); in 48% Verschmelzung von p12,Z und q12 zu einem einheitlich dunklen Bereich(168,266);

q:

Region 1: in 16% sind alle Banden dieser Region abgrenzbar, s.auch A; die dunkle Bande q14 fällt dabei oft relativ schmal aus(266,18ob); in 63% sieht man eine Z-nahe dunkle Bande(vermutlich Verschmelzung aus q12 und q14)anschließend eine helle verbreiterte Bande(vermutlich q15) und die dunkle q16 (176,264); in 17% sind die hellen Banden q13 und q15 nicht abgrenzbar, Verschmelzung von q12-q16 zu einem dunklen Bereich;

Region 2

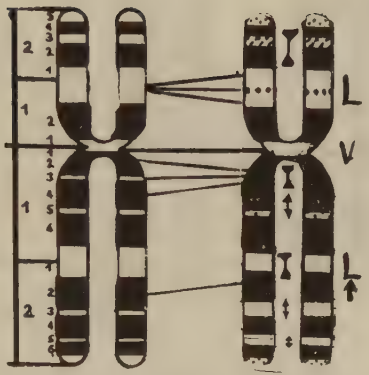
Landmarke q21: meist als helle Bande sichtbar, jedoch oft schmäler als im Paris-Schema ausgeprägt; teilweise ist sie nur in Form einer Einziehung angedeutet;

Abschnitt q22-q27: in 32% alle Banden dargestellt(266), dabei sind die hellen Banden q23 und q25 zum Teil breiter als im Paris-Schema ausgeprägt(231,266),s.auch Ab; in 31% q26 in Form eines hellen "Ausläufers" oder nicht dargestellt(242,263); im Übrigen sieht man nur die Bande q22 und anschließend einen schwach angefärbten Bereich ohne Bandengliederung;

terminaler Bereich: in 23% scheint die Bande q26 terminal gelegen, ansonsten sieht man distal einen hell auslaufenden, schwach angefärbten Bereich;

CHROMOSOM 6

A



B

231 266 176 263 180 242 264 168

D

C

CHROMOSOM 7

p:

Region 1

Bande p12: in 30% als dunkle Bande abgrenzbar(18o);
in 39% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(231,176);
in 8% mit p14 verschmolzen;
in 21% läßt sich p12 nicht als dunkle Bande abgrenzen(168);

Bande p14: in 4o% als dunkle Bande abgrenzbar(18o,231);
in 56% nicht als Bande dargestellt, in 43% sieht man stattdessen einen hellen Bereich(168), in 13% davon ist eine Verschmelzung der dunklen Banden p12 und p14 zu sehen;

Landmarke p21: durchwegs als dunkle Bande dargestellt, teilweise gegen p14 durch eine dunklere Anfärbung abgesetzt (2o8); p21 ist oft breiter als im Paris-Schema vorgegeben und breiter als die Bande p14(im Paris- sind p14 und p21 gleichbreit dargestellt);

terminaler Bereich: in 9o% scheint die Landmarke p21 terminal gelegen;

Z: in 79% ist Z dunkel dargestellt, teils von den anliegenden Banden abgrenzbar, teils mit p12 verschmolzen; in 18% sieht man einen hellen Z-Bereich; Beispiel 168 zeigt eine Größendifferenz der Z-Region unter den homologen Chromosomen;

q:

Bande q11: durchwegs als helle Bande dargestellt;

Landmarke q21: konstant abgrenzbare dunkle Bande; vereinzelt Auflösung von q21 in zwei dunkle und eine helle Unterbande q21.1,21.2,21,3(18o); diese Unterbanden lassen sich auch in A erkennen;

Bande q22: durchwegs als helle Bande abgrenzbar;

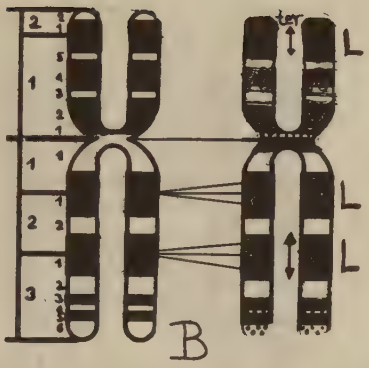
Landmarke wie q21 durchwegs abgrenzbar, zum Teil breiter ausgeprägt als q21 (im Paris-Schema sind beide Landmarken in gleicher Breite dargestellt)wie in 231, 242; wie in q21 vereinzelt Unterteilung in q31.1, q31.2,q31.3(18o,242b) s.auch A;

Abschnitt q32-36: in 5o% sieht man eine dunkle Bande-vermutlich Verschmelzung von q33 mit q35;
in 37% ist dieser Abschnitt als schwach angefärbter Bereich ohne Bandengliederung zu sehen(168) oder nicht dargestellt;
in 7% Verschmelzung mit q31 zu einem breiten dunklen Bereich; die helle Bande q32 ist dabei in Form einer Einziehung oft nur angedeutet(2o8a); vereinzelt sind sämtliche Bandenddieses Abschnitts erkennbar(18oa), s.auch A;

terminaler Bereich: in 34% scheint die distale dunkle Bande terminal gelegen(2o8), im übrigen hell auslaufender Bereich;

CHROMOSOM 7

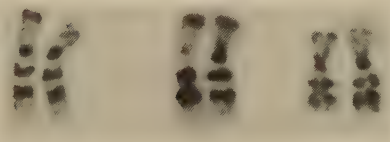
A



B

208 231 257 176 180 242 168

D



7-Polymorphismus (168)

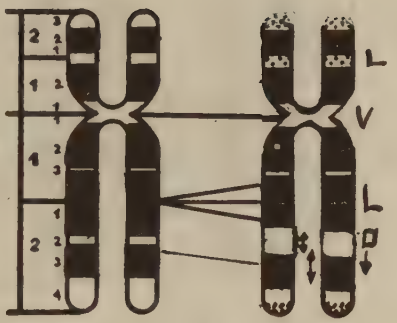
C

CHROMOSOM 8

p:	in 6o% sind die Banden p12 und p22 als dunkle Banden abgrenzbar; in 33% ist der kurze Arm ohne Bandengliederung und zwar in 17% als einheitlich dunkler Bereich, in 16% als schwach angefärbter Bereich, in dem p12 und q12 nur durch geringgradige Farbabstufungen angedeutet sind(23o) zu sehen;
Landmarke p21:	in 5o% als helle Bande dargestellt(231,242); in 1o% nur durch Einziehungen angedeutet;
terminaler Bereich:	in 25% scheint p22 terminal gelegen, ansonsten ausläuferähnlicher schwach angefärbter Bereich;
Z:	In 58% helle Darstellung des Z; im übrigen dunkle Anfärbung;
q:	
Bande q12 u. Landmarke q21:	in 68% als dunkle Banden sichtbar(231,176), wobei die helle Bande q13 dazwischen teils abgrenzbar ist, teils nur durch Einziehungen angedeutet ist; in 23% Verschmelzung von q12 und q21 zu einem dunklen Bereich(168b,23ob); in 5% erscheint der proximale Bereich von q relativ schwach angefärbt, dagegen ist die dunkel angefärbte Landmarke gut abgrenzbar(168a) in 15% Auflösung der Landmarke q21 in q21.1,21.2, 21.3(176a,266) s.auch A;
Bande q22:	meist abgrenzbar, oft breiter als im Paris-Schema dargestellt; charakteristisches Merkmal von 8;
Bande q23:	durchwegs als dunkle Bande abgrenzbar, ebenfalls oft breiter als im Paris-Schema ausgeprägt(176, 168);
terminaler Bereich:	in 24 % sieht man terminal eine schmale dunkle Bande(231,261), die im Paris-Schema nicht eingetragen ist; diese Bande läßt sich auch in A feststellen;

CHROMOSOM 8

A



B

231 242 261 176 266 168 230

D

7% 20% 10% 4% 58%

C

CHROMOSOM 9

p:

Bande p12: in 2o% von Z abgrenzbar(266,231a); im übrigen entweder mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(176, 261a) oder nicht als Bande dargestellt(242,231b);

Landmarke p21: in 5o% als dunkle Bande sichtbar(266,231); in 44% mit der Bande p23 zu einem dunklen Bereich verschmolzen(23o, 264a), dabei ist die helle Bande p22 dazwischen bisweilen nur in Form von Einziehungen angedeutet;

Bande p23: in 18% als dunkle Bande dargestellt(266); mehrfach nur als schwach angefärbter von p21 auslaufender Bereich angedeutet(176a);

Wie auch in A erkennbar, erscheint p23 oft breiter als im Paris-Schema vorgegeben, zum Teil ebenso breit wie die Landmarke p21(266);

terminaler Bereich: in 55% wirkt p23 bzw. die Verschmelzungsbande p21 mit p23 terminal gelegen(231,261);

Z und Bande q21: die Z-Region ist in 76% dunkel angefärbt, in 41% von den angrenzenden Banden abgesetzt, in 35% mit p12 bzw.q12 zu einem dunklen Bereich verschmolzen; in 2o% ist die Z-Region hell dargestellt (242);
q12 ist in 39% hell dargestellt(242,231),s.auch Ab; in 35% ist q12 mit q21 zu einem dunklen Bereich verschmolzen(23o); in 22% sieht man q12 als dunkle Bande dargestellt(176b,18ob); vielfach sind Längenunterschiede der q12-Bande festzustellen, in 176,231 und 264 ist q12 etwa doppelt so lang wie die entsprechende Bande des zugehörigen Homologen;

Beispiel 257 zeigt einen Verdacht auf eine perizentrische Inversion des C9-Heterochromatins;

q:

Landmarke q21: in 63% als dunkle Bande abgrenzbar; in 1o% davon ist ein Aufspaltung von q21 in q21.1,q21.2,q21.3 zu sehen(231a,261b,176b) s. auch A;
in 35% Verschmelzung mit q12 zu einem dunklen Bereich verschmolzen;

Bande q22: als helle Bande durchwegs abgrenzbar, oft breiter dargestellt als im Paris-Schema(242), s.auch A;

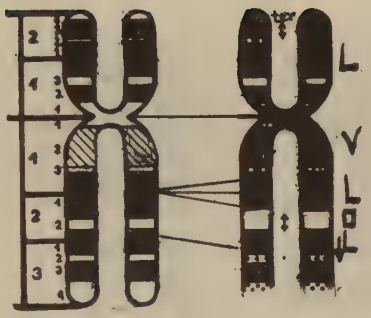
Landmarke q31: in 69% abgrenzbar(18o,242); in 26% mit q33 zu einem dunklen Bereich verschmolzen(23o);

Bande q33: in 15% als dunkle Bande dargestellt(18ob); in 56% nicht als dunkle Bande sichtbar(18oa) oder nur in Form eines diffus, schwach angefärbten Ausläufers der Bande q31 zu sehen(242);

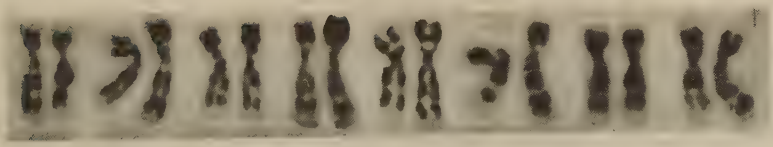
terminaler Bereich: in 18% wirkt q33 bzw.die Verschmelzungsbande q31 mit q33 terminal gelegen(261);

CHROMOSOM 9

A



B



231 261 266 242 176 180 230 264

D

Verdacht auf eine perizentrische Inversion des C-Heterochromatins (257)

C

CHROMOSOM 1o

p:

Bande p12: in 8% als dunkle Bande abgrenzbar(185b);
in 28% scheint p12 mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(176);
in 18% sieht man eine dunkle Bande in der Mitte des kurzen Arms, vermutlich eine Verschmelzung der Banden p12 und p14(183,261b);
in 27% ist p schwach bis kräftig dunkel angefärbt und ohne Bandengliederung(168);

Bande p14: in 53% als dunkle Bande sichtbar(176,261);

terminaler Bereich: in 5% sieht man terminal eine schmale dunkle Bande(176,261), s.auch Aa; ansonsten allmählich heller werdender, ausläuferähnlicher Bereich;

Z: in 75% dunkle Z-Darstellung;
in 23% helle Z-Region(174a);

q:

Bande q11: meist als helle Bande abgrenzbar;

Landmarke q21: durchwegs als dunkle prominente Bande zu sehen; im Vergleich zu den übrigen dunklen Banden des Chromosoms 1o zeichnet sie sich durch besonders intensive Anfärbung aus;
in 5% ist eine Aufspaltung in q21.1,q21.2,q21.3 zu beobachten(266,176) s.auch Aa;

Bande q22: größtenteils abgrenzbare helle Bande;

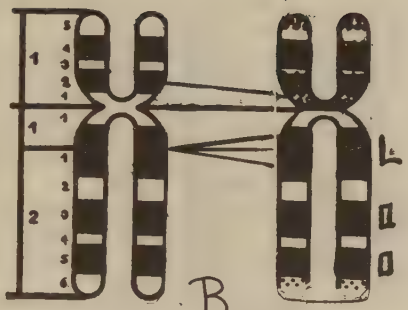
Abschnitt q22-q26: in 87% sind die dunklen Banden q23 und q25 als prominente Banden dargestellt und durch die helle Bande q24 voneinander abgegrenzt; in 9% ist q24 nur in Form einer Einziehung angedeutet oder nicht dargestellt;

terminaler Bereich: meist als von q25 ausgehender allmählich heller werdender Bereich dargestellt;

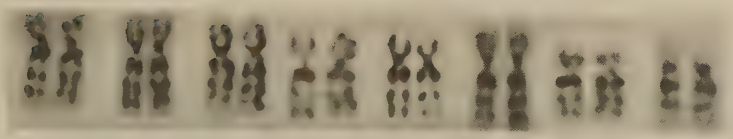
Beispiel 215 zeigt eine balancierte Translokation zwischen Chromosom 1 und 1o;

CHROMOSOM 1o

A

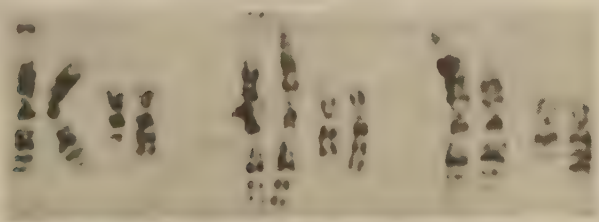


B



266 261 176 185 183 242 174 168

D



balancierte Translokation t(1oq-; 1p+)
(215)

C

CHROMOSOM 11

p:

Abschnitt p12-p14: in 2o% sind p12 und p14 als dunkle Banden abgrenzbar(18o,261);

in 77% sieht man eine relativ breite dunkle Bande - vermutlich Verschmelzungsbande aus p12 und p14(174,168,176a);

p13 ist selten als helle Bande dargestellt; meist in Form von Einziehungen nur angedeutet oder nicht sichtbar;

terminaler Bereich: in 17% scheint p14 terminal gelegen(2o8), ansonsten von p14 allmählich heller auslaufender Bereich(176a,18ob) s.auch A;

Z: in 22% Verschmelzung von Z mit p12 zu einem dunklen Bereich(263);

in 48% Verschmelzung mit q12 zu einem dunklen Bereich(266a,176b);

in 12% ist die Z-Region hell dargestellt;

q:

Bande q12: in 15% als schmale dunkle Bande abgrenzbar(226b, 18oa); ansonsten mit Z verschmolzen oder nicht dargestellt(174,263);

Bande q13: durchwegs als helle Bande sichtbar, meist breiter als im Paris-Schema dargestellt(168,2o8, 263), s. auch A;

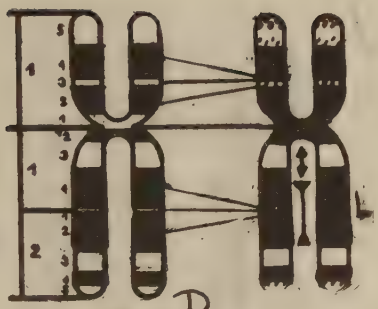
Abschnitt q14-q22: in 7o% sind die Banden q14 und q22 zu einem dunklen Breich verschmolzen, dabei nehmen die beiden Banden zusammen oft einen weniger breiten Bereich als im Paris-Schema ein(168,263); die Landmarke q21 ist nur selten als helle Bande abgrenzbar, in 29% ist sie in Form von Einziehungen angedeutet(18o,261,176);

Bande q23-q24: in 3o% ist q24 als schmale dunkle Bande sichtbar und gegen die helle q23 abgegrenzt(2o8,261);

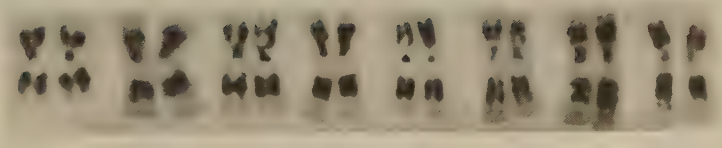
terminaler Bereich: in 25% wirkt die Bande q24 terminal gelegen(226a); in 9% scheint die Verschmelzungsbande q14-q22 terminal gelegen;
im übrigen ist ein schwach angefärbter hell auslaufender distaler Bereich dargestellt;

CHROMOSOM 11

A



B



174 168 176 263 208 261 180 226

D

21% 51% 4% 11% 12%

C

CHROMOSOM 12

p:

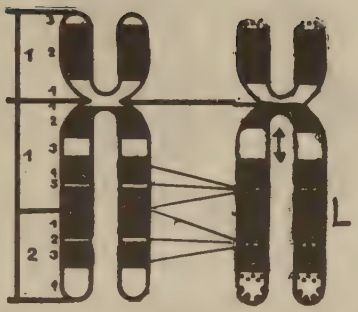
Bande p11:	durchwegs als helle Bande abgrenzbar;
Bande p12:	durchwegs als dunkle Bande sichtbar;
terminaler Bereich:	meist als von p12 ausgehender und allmählich heller werdender Bereich; vereinzelt wirkt die Bande p12 terminal gelegen;
Z:	in 85% ist Z dunkel angefärbt und mit q12 als einheitlich dunkler Komplex dargestellt, die helle q11 ist dabei nicht abgrenzbar,s.auch A;
	in 14% sieht man eine helle Z-Region(226,174b);

q:

Bande q12:	in 12% als schmale dunkle Bande von der hellen q11 abgrenzbar(226);
Bande q13:	durchwegs sichtbare helle Bande, gemäß dem Paris-Schema schmäler als q13 von Chromosom 11, jedoch breiter als im Paris-Schema angegeben;
Abschnitt q14-q23:	in 18% sind die im Paris-Schema eingetragenen Banden abgrenzbar(231,242b);
	in 71% sind die Banden q14-q23 zu einem einheitlich dunkel gefärbten Bereich verschmolzen und die hellen Banden q15 und q22 nicht dargestellt; die Landmarke q21 ist somit nur in 18% als dunkle Bande hervorgehoben;
terminaler Bereich:	meist als hell auslaufender, schwach angefärbter distaler Bereich zu sehen;
	in 14% ist terminal eine schmale dunkle Bande angedeutet(231,266b,226a), s.auch A;

CHROMOSOM 12

A



B

174 168 176 266 226 261 231 242

D

C

CHROMOSOM 13

p:

Bande p11: überwiegend dunkel dargestellt (77%); relativ häufig läßt sich eine Größendifferenz feststellen, wie in Beispiel 174;

Bande p12: durchwegs helle Darstellung der Satellitenarme;

Bande p13: in 48% sind dunkel angefärbte Satelliten beobachtbar (18o,176), die teilweise eine deutliche Größendifferenz aufweisen;

Z: in 2o% helle Anfärbung von Z (18oa,168a), oft ist die Abgrenzung zwischen Z und proximaler p-Region nicht möglich; in 77% dunkle Anfärbung der Z-Region;

q:

Bande q13: in 8o% als dunkle Bande zu sehen; im Vgl. zu den Landmarken q21 und q31 wirkt sie schwächer angefärbt (242,263);

in 13% ist ein diffus angefärbter Bereich sichtbar, der sich durch hellere Anfärbung von der dunklen Landmarke q21 abhebt(168);

Landmarken q21 und q31: in 6o% gegeneinander als dunkle Banden abgrenzbar; in 34% wirken q21 und q31 etwa gleichbreit (23o,231,176b), in 26% scheint q21 wie im Paris-Schema breiter als q31(261,18o);

in 5% läßt sich eine Aufspaltung der Bande q21 in q21.1,q21.2,q21.3 erkennen(18o,261a,176a); im Übrigen sieht man einen einheitlich dunklen Bereich, vermutlich infolge Verschmelzung von q21 mit q31(168);

Mehrfach scheint die proximal angrenzende helle Bande q14 breiter als im Paris-Schema, während der dunkle Bereich beider Landmarken insgesamt schmäler wirkt(263,176,242);

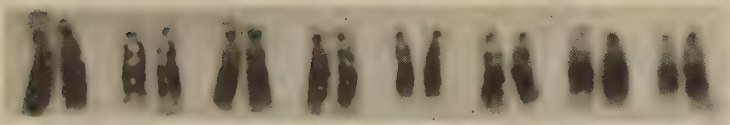
Bande q33: in 24% als dunkle Bande abgrenzbar(18o,263b); in 14% Verschmelzung mit q31(231a); ansonsten nicht dargestellt oder als heller Ausläufer der Bande q31 angedeutet(23o,242);

terminaler Bereich: in 25% wirkt q33 bzw. die Verschmelzungsbande q31-q33 terminal gelegen; in 12% scheint die Landmarke q31 terminal gelegen; ansonsten allmählich heller werdender Bereich;

CHROMOSOM 13

A

B



180 176 242 261 231 263 168 230

D

(174)

(180)

C

CHROMOSOM 14

p:

Bande p11: in 70% dunkle Darstellung von p11, wie in 13 ist die Abgrenzung von p11 zum Z schwierig; relativ häufig läßt sich eine Größendifferenz von p11 feststellen;

Bande p12: durchwegs hell dargestellt;

Bande p13 : in 54% sieht man dunkle Satelliten, die ebenfalls häufig Größenunterschiede aufweisen, s. Beispiel 182 ;

Z: in 28% helle Darstellung, im übrigen s.p11;

q:

Bande q12: in 30% als dunkle Bande abgrenzbar (18o,261), s.auch Aa; ansonsten läßt sich oft nicht erkennen, ob q12 mit der Landmarke q21 verschmolzen ist (242a,263a) oder ob q12 nicht dargestellt ist und demzufolge die helle Bande q11 breiter erscheint(168,176a);

Landmarke q21: in 40% als dunkle Bande abgrenzbar(18o,261), s.auch Aa; ansonsten sieht man einen dunklen Bereich- vermutlich Verschmelzung von q12 bzw. q23 mit der Landmarke q21(2o8a,263a) s.auch Ab;

Bande q23: in 27% als dunkle Bande sichtbar(231,261); q23 weist im Vergleich zur Landmarke q21 oft eine schwächere Anfärbung auf(18ob,231a); teilweise sieht man q23 in Form eines schwächer gefärbten, an die Landmarke angrenzenden Bereichs nur angedeutet(18oa,242b);

Bande q24: durchwegs als helle Bande abgrenzbar, oft breiter als im Paris-Schema (2o8,263);

Landmarke q31: durchwegs abgrenzbare dunkle Bande;

terminaler Bereich: in 60% wirkt die Bande q31 terminal gelegen;

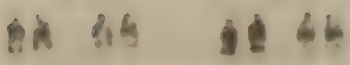
CHROMOSOM 14

A

B

180 242 263 261, 231 208 176 168

D



(182)

22% 11% 3% 34% 28%

C

CHROMOSOM 15

p:

Bande p11: in 87% dunkle Darstellung, wie in 13 und 14 häufig Größendifferenz und Abgrenzungsschwierigkeit gegenüber Z;

Bande p22: durchwegs helle Darstellung;

Bande p13: in 52% sind dunkle Satelliten von oft beträchtlicher Größendifferenz beobachtbar; s.auch die Beispiele 176,174,266,214;

Z: in 13% helle Darstellung, im Übrigen s.p11;

q:

Region 1: in 48% sieht man eine dunkle Bande in der Mitte der Region(261,263,18oa), vermutlich Verschmelzung von q12 mit q14, s. auch Aa;

in 23% ist ein diffus angefärbter Bereich ohne Bandengliederung sichtbar(168,242b);

in 21% ist von q12 an ein dunkle Bereich zu sehen, der distal in die Landmarke q21 übergeht;

in 6% sind wie in Ab die beiden schmalen dunklen Banden q12 und q14 angedeutet (18ob)

Landmarke q21: in 72% als dunkle Bande abgrenzbar; vereinzelt Auflösung von q21 in q21.1,21.2,21.3, (261b) auch in A sichtbar;

Bande q23: in 16% dargestellt, allerdings meist nur schwach angefärbt(176,266); ansonsten nicht als Bande abgrenzbar;

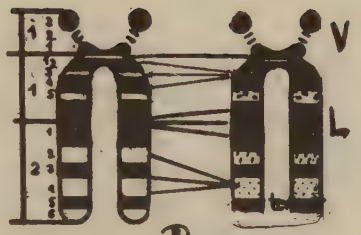
Bande q25: in 66% als dunkle Bande sichtbar (242,18o); im übrigen ist ein diffus angefärbter Bereich dargestellt (168);

terminaler Bereich: in 45% wirkt die Bande q25 terminal gelegen;

Im Vergleich zu den übrigen Chromosomen der D-Gruppe wirkt das Chromosom 15 insgesamt schwächer angefärbt, vor allem im distalen q-Bereich, wogegen die Z-Region besonders intensiv dunkel dargestellt ist.

CHROMOSOM 15

A



B

180 266 261 263 176 242 230 168

D

(176) (174)

(266) (214)

C

CHROMOSOM 16

p:

Bande p11: größtenteils als heller Bereich zu sehen;
in 13% wegen diffuser Anfärbung des gesamten kurzen Arms nicht als Bande abgrenzbar (242);

Bande p12: in 58% als dunkle Bande sichtbar(231,2o8); oft sieht man p12 relativ schwach angefärbt (23o,261),s.auch A; im übrigen ist p diffus angefärbt und p12 nicht abgrenzbar; vereinzelt ist p insgesamt hell dargestellt (183b);

terminaler Bereich: in 18% wirkt p12 terminal gelegen, im übrigen allmählich schwächer werdender, ausläuferähnlicher Bereich;

Z: und die Banden q11-q12: Z ist meist dunkel gefärbt und mit dem im Paris-Schema variablen Bereich q11 zu einem dunkel gefärbten Block verschmolzen; teilweise ist eine Längendifferenz von q11 zu beobachten, in Beispiel 2o8 beträgt diese Differenz ungefähr das Doppelte des zugehörigen Homologen - E 16-Polymorphismus; die dunkle Bande q12 istdurchwegs mit q11 verschmolzen und nicht als Bande abgrenzbar;

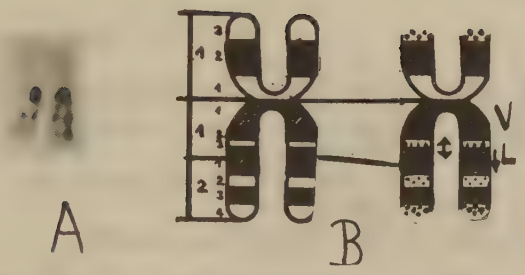
Bande q13: in 48% als helle Bande abgrenzbar; teilweise breiter dargestellt als im Paris-Schema angegeben(261,266);

Landmarke q21: in 53% als dunkle Bande sichtbar(261,266);
in 17% mit mit dem Z-nahen Heterochromatinbereich verschmolzen(264,231b);
in 27% sieht man einen schwach angefärbten Bereich ohne Bandengliederung(23o);

Bande q23: in 35% abgrenzbar(261,231,2o8);
in 12% mit q21 zu einem dunklen Bereich verschmolzen; ansonsten nicht als Bande zu sehen(23o);

terminaler Bereich: in 24% wirkt q23 terminal gelegen; ansonsten ausläuferähnlicher Bereich;

CHROMOSOM 16



180 242 261 266 231 230 208 183 264

D

E 16 - Polymorphismus
(208)

C

CHROMOSOM 17

p:

Bande p12: in 26% als Bande abgrenzbar(231,261);

in 19% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(266a,264a);

in 38% ist p diffus angefärbt ohne Bandengliederung (242,168);

in 1o% ist p hell dargestellt;

terminaler Bereich: meist ist ein diffuses, hell auslaufendes p-Ende zu sehen;

Z: in 16% helle Darstellung; im übrigen sieht man ein dunkles Z, das sich teilweise in den kurzen Arm erstreckt;

q:

Bande q12: in 3o% als dunkle Bande abgrenzbar(176,261);

in 2o% mit Z verschmolzen(231,264a);

in 15% sieht man eine diffuse Anfärbung innerhalb dieses Bereichs(242);

in 34% nicht dargestellt(168);

Landmarke q21: durchwegs abgrenzbare helle Bande;

Abschnitt q22-q25: in 54% ist eine relativ breite dunkle Banden zu sehen- vermutlich Verschmelzung von q22 und q24 (168,264a);

in 18% ist eine schmale dunkle Bande zu sehen- vermutlich q22(176a);

in 22% sind q22 und q24 als dunkle Banden abgrenzbar;teilsweisen sie die gleiche Ausdehnung auf, teils ist q22 entsprechend dem Parisschema breiter als q24;

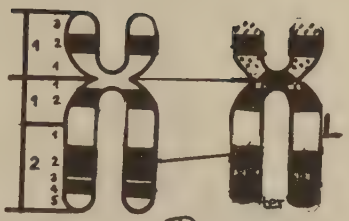
in 4% diffuse Anfärbung des Abschnitts(242);

terminaler Bereich: in 38% wirkt q24 bzw. die Verschmelzungsbande q22-q24 terminal gelegen,s.auch A;

Insgesamt weisen die 17-Chromosomen eine relativ schwache Anfärbung auf.

CHROMOSOM 17

A



B

176 231 261 266 264 242 168 230 226

D

34% 18% 10% 20% 16%

C

CHROMOSOM 18

p:

in 27% ist eine dunkle Bande dargestellt (18o,242,261) und auch in A, die im Paris-schema nicht eingetragen ist- möglicherweise Aufspaltung der hellen p11 in p11.2, p11.2,p11.3;

in 11% sieht man einen dunklen in Z übergehenden Bereich (23o,231b);

in 2o% ist eine diffuse Anfärbung zu sehen (266b);

terminaler Bereich:

diffuser, ausläuferähnlicher terminaler Bereich;

Z:

zum Teil wirkt Z in den kurzen Arm hochgezogen- möglicherweise infolge einer Verschmelzung von Z mit p11.2 (266a,183);

in 34% helle Z-Darstellung, ansonsten dunkles Z;

q:

Bande q11:

in 65% als helle Bande sichtbar;

in 33% durch Verschmelzung von q12 mit Z nicht erkennbar (261);

Bande q12:

meist als dunkle Bande abgrenzbar, teilweise schmäler als im Paris-Schema(266b,183a);

in 6% Aufspaltung von q12 in q12.1,q12.2, q12.3(18ob,266a,2o8b); s.auch A;

in 14% Verschmelzung von q12 mit q22 zu einem dunklen Bereich;

Landmarke q21:

meist als helle Bande abgrenzbar, teils breiter als im Paris-Schema dargestellt(183,266b);

Bande q22:

in 14% mit q12 verschmolzen;

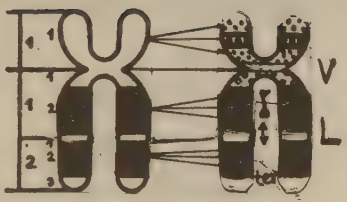
in 6% wie bei q12 eine Aufspaltung in die Unterbanden q22.1,22.2,22.3 (18oa,2o8b) , s.auch A;

terminaler Bereich:

in 53% wirkt die Bande q22 terminal gelegen;

CHROMOSOM 18

A



B

180 266 261 231 176 242 183 208 230

D

C

CHROMOSOM 19

p:

Bande p12: meist in Form eines in den kurzen Arm hochgezogenen Zentromerbereichs zu sehen, wobei nicht unterschieden werden kann, ob p12 in dem dunklen Bereich enthalten ist oder nicht;

Bande p13: in 1o% findet sich in diesem Bereich eine im Paris-Schema nicht dargestellte dunkle Bande- vermutlich infolge Aufspaltung der hellen p13 in p13.1,13.2,13.3 (18o,231);

terminaler Bereich: durchwegs allmählich hell auslaufender Bereich;

Z: und Bande q12: relativ breiter dunkler Z-Bereich , teilweise Verschmelzung mit p12 und/oder q12; in 4% helle Z-Darstellung;

Bande q13: in 13% ist in diesem Bereich eine dunkle Bande zu sehen (266,231), vereinzelt sind zwei Banden angedeutet(18o) und in Aa; vermutlich infolge einer Aufspaltung der hellen Bande q13 in q13.1, q13.2,q13.3,q13.4,q13.5

terminaler Bereich: durchwegs wie bei p diffuser hell auslaufender Bereich;

CHROMOSOM 2o

p:

Bande p11: durchwegs als helle breite Bande abgrenzbar;

Bande p12: meist abgrenzbare dunkle Bande, in 7% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen(176b); in 5% nicht als Bande abgrenzbar;

terminaler Bereich: in 43 % wirkt die dunkle p12 terminal gelegen;

Z: größtenteils sieht man ein dunkel gefärbtes Z im Gegensatz zu der hellen Z-Darstellung im Paris-Schema;

q:

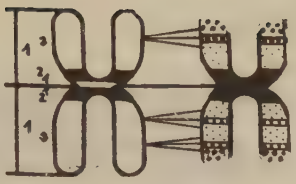
Bande q11: durchwegs als helle Bande abgrenzbar;in 8% Unterteilung dieser Bande in q11.1, q11.2,q11.3 (18o);s. auch A:

Bande q12: in 41% als dunkle Bande dargestellt(231,266); in 38% ist q insgesamt diffus angefärbt und ohne Bandengliederung(242,23o); in 1o% ist q hell dargestellt(263);

terminaler überwiegend hell auslaufendes q-Ende;

CHROMOSOM 19

A



B

180 242 231 176 261 266 230 263

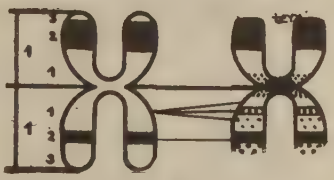
D

30 4 4 14.5 4⅓

C

CHROMOSOM 2c

A



B

176 266 231 242 230 208 263 180

D

47% 23% 8% 1.0% 10%

C

CHROMOSOM 21:

p:

Bande p11: in 53% als dunkler Bereich dargestellt, häufig mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen;

Bande p12: wie in den D-Chromosomen durchwegs hell dargestellt;

Bande p13: in 39% sind dunkle Satelliten, oft unterschiedlicher Größe dargestellt, s.Beispiel 242;

Z: in 15% helle Darstellung, ansonsten mit p11 bzw. q12 verschmolzen;

q: in 18% ist zwischen p und q21 ein heller Bereich sichtbar der nicht sicher q11 (s.A) oder Z (176b) zugeordnet werden kann;

Landmarke q21: durchwegs dargestellte dunkle Bande;

Bande q22: in 7o% als von q21 allmählich hell auslaufender Bereich dargestellt;
vereinzelt ist eine schwach angefärbte dunkle Bande angedeutet(215b),s.auch A;

terminaler in 25% wirkt q21 terminal gelegen, ansonsten ausläferähnlicher terminaler Bereich;

CHROMOSOM 22

p:

Bande p11: wie in 21 überwiegend dunkel dargestellt;

Bande p12: durchwegs hell dargestellt;

Bande p13: in 32% sind dunkle Satelliten oft variabler Größe dargestellt;

Z: in 1o% helle Darstellung, im übrigen mit p11 bzw. q12 zu einem dunklen Bereich verschmolzen;

q:

Bande q11: in 45% als helle Bande abgrenzbar(176,2o8);

Bande q12: in 45% als dunkle Bande zu sehen, im Vgl. zu q21 in Chromosom 21 ist 22q12 schwächer angefärbt;

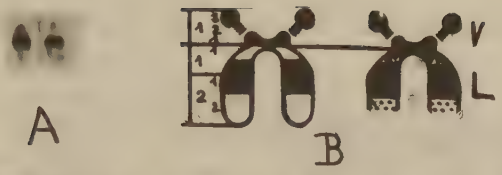
in 6% mit Z verschmolzen(263);

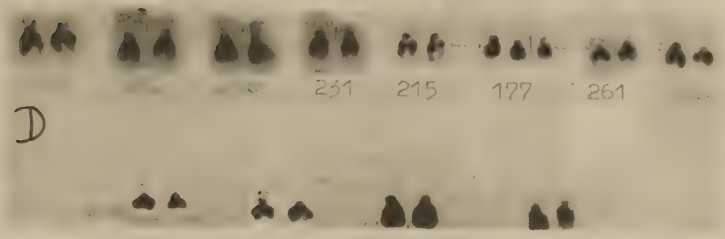
in 32% diffus angefärbter Bereich ohne Bandengliederung(226,23o);

im übrigen ist q12 nicht als Bande dargestellt;

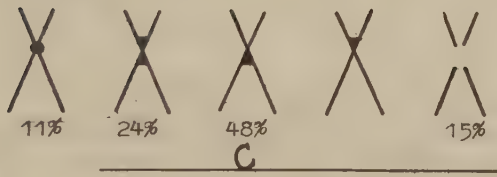
terminaler Bereich: meist als hell auslaufender Bereich der Bande q12 dargestellt;

CHROMOSOM 21

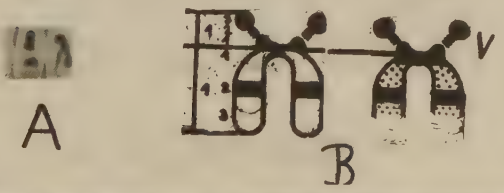


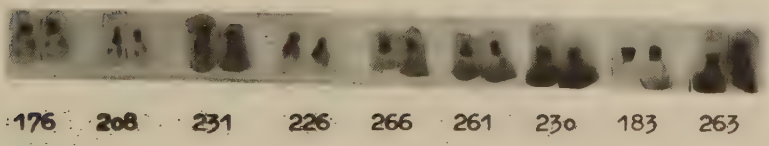


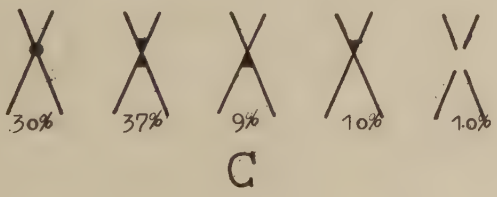
(242)



CHROMOSOM 22







Y CHROMOSOM

Unter den bearbeiteten Fällen waren 41 männliche Karyogramme;

p: in 32 Fällen ist der kurze Arm teils durch dunkle Anfärbung teils durch schwache Anfärbung dargestellt (231,225;261,215);

in 8 Fällen ist p hell dargestellt (178);

in 1 Fall ist eine Inversion innerhalb des Z-nahen Y-Bereichs zu sehen (Beispiel 227);

terminaler Bereich: überwiegend diffuser terminaler Bereich;

Z: zum Teil hell dargestellt (242,261,178); im übrigen durch Verschmelzung von p mit dem dunklen q-Bereich nicht abgrenzbar (231,225);

q:

Bande q11: in 18 Fällen helle q11 (171,178), s.auch A;

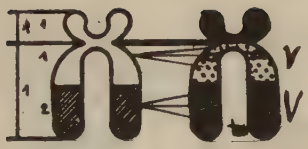
in 2 Fällen sieht man eine zentromernahe dunkle Bande, die vom q12-Bereich abgesetzt ist (242,261), in 261 läßt sich diese Bande in mehreren Mitosen feststellen;

in 21 Fällen ist der gesamte q-Bereich dunkel angefärbt (231,225);

Bande q12: durchwegs stark dunkel angefärbter Bereich oft unterschiedlicher Längenausdehnung; vereinzelt ist eine Untergliederung von q12 in Form von Einziehungen angedeutet,s.auch A;

terminaler Bereich: in 35 Fällen wirkt q12 terminal gelegen; in 6 Fällen diffuser terminaler Bereich;

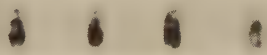
Y CHROMOSOM



A B

266 242 263 261 231 225 215 171 178

D



(261)

(227)

V.a. perizentrische Inversion des Y Chromosoms
46, X inv (Y) (p1; q12);

X CHROMOSOM

p:

Bande p11: in 11% findet man zentromernah eine schmale dunkle Bande in der hellen p11- vermutlich infolge Aufspaltung von p11 in 11.1,11.2, 11.3(261,176), die im Paris-Schema nicht dargestellt ist;

Landmarke p21: durchwegs als dunkle Bande sichtbar; im Vergleich zum Paris-Schema wirkt sie oft breiter(226,261);

terminaler Bereich: das p-Ende ist überwiegend als spitz auslaufender, von der Landmarke p21 aus allmählich heller werdender Bereich zu sehen (261,18o,263);

in 18% ist terminal eine schmale dunkle, im Paris-Schema nicht aufgeführte Bande erkennbar (215,183),s.auch A;

Z: in 62% dunkle Z-Darstellung;

in 35% sieht man eine helle Z-Region (226);

q:

Bande q12: in 21% mit Z zu einem dunklen Bereich verschmolzen (176,242);

in 1o% als schmale dunkle Bande abgrenzbar (18o,266);

ansonsten nicht als Bande abgrenzbar;

Bande q13: meist als charakteristische helle Bande zu sehen;

Landmarke q21: durchwegs als dunkle Bande dargestellt;

Abschnitt q22-q28: in 16% sind alle Banden abgrenzbar (18o,2o8);

in 43% sind zwei dunkle Banden sichtbar - möglicherweise Verschmelzung von q23 mit q25(242,231);

teilweise ist eine relativ breite helle Bande zu sehen- möglicherweise Verschmelzung der hellen Banden q22 und q24 (23o,263,261) auf Kosten der Bande q23; q27 ist dabei durchwegs sichtbar;

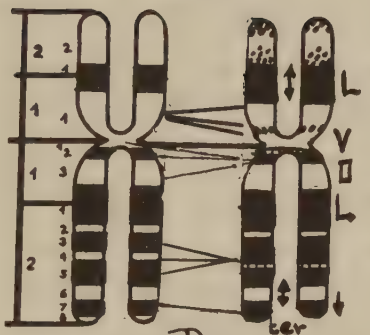
in 36% ist der gesamte Abschnitt dunkel angefärbt;

in 59% ist die Bande q26 als helle Bande abgrenzbar, teilweise relativ breit (18o,263);

terminaler Bereich: in 43% wirkt die Bande q27 terminal gelegen (261,18o),s.auch A;

X CHROMOSOM

A



B

231 261 180 226 208 215 183 176 263 242 230 266

D

C

6. DISKUSSION

6.1. VALIDITÄT DER WALTHER-METHODE

Mit der Erfassung der ersten 1oo aufeinanderfolgenden, nach der WALTHER-Methode gefärbten Fälle, konnten wir eine Übersicht über die Qualität und Analysierbarkeit der Bandenmuster gewinnen. In 51% der untersuchten Fälle wiesen die Chromosomen sehr gute bis gute Bandenqualität auf. In 3o% fielen die Bandenmuster zufriedenstellend aus. In 19% war die Chromosomenanalyse beeinträchtigt durch leichte bis mäßige Überfärbung, Verklumpung, Überquellung oder infolge eines zu starken Kontraktionszustandes.

Die nach der WALTHER-Technik gefärbten Chromosomenpräparate zeigten nebeneinander Zellen in den verschiedenen Teilungsphasen. Für die vorliegende Arbeit wurden ausschließlich Metaphasechromosomen untersucht und ausgewertet. Chromosomen der frühen Metaphase fanden wir für die Bandenanalyse am besten geeignet, da hier bereits eine gute Bandenauflösung vorlag, aber die für frühere Mitosestadien (Prophasechromosomen) typischen Überlagerungen und Verdrehungen selten waren.

Abgesehen von den variablen Regionen, auf die in 6.3.2. noch näher eingegangen wird, fanden wir unter den Bandenmustern der verschiedenen Individuen keine grundsätzlichen Differenzen, wobei der unterschiedliche Spiralisationsgrad der einzelnen Metaphaseplatten berücksichtigt werden mußte.

Gegenüber den Bandenmustern der enzymatisch vorbehandelten Chromosomen, bei denen die hellen Banden flächenmäßig überwogen und die dunklen Banden sich scharf von den hellen Bereichen abgrenzten, überwogen bei der vorbehandlungsfreien Methode nach WALTHER die dunklen Banden. Ein Nachteil für die Analysierbarkeit der Bandenmuster war dabei die Tendenz der dunklen Banden zur Konglomeratbildung, vor allem bei den stärker kontrahierten Chromosomen (Tendenz zur konventionellen Färbung).

Die von WALTHER vermutete gleichzeitige dunkle Anfärbung der G- und C-Banden bei Anwendung dieser Technik konnten wir nicht bestätigen, was im Folgenden noch eingehend erläutert werden soll.

Mit obigen Ergebnissen hatte sich die Methode nach WALTHER als aussagekräftige und zuverlässige G-Bandentechnik erwiesen und sich als Routinemethode in der klinisch-zytogenetischen Diagnostik bewährt.

6.2. DISKUSSION DER UNTERSUCHUNGSMETHODE

6.2.1. AUSWAHL

Um Typ und Variabilität der G-Bandenmuster und ihre Konstanz hinreichend erfassen und schematisch veranschaulichen zu können, arbeiteten wir an einem relativ umfangreichen Untersuchungsmaterial. Wie in 4.1. erläutert, war in 25 der 1oo aufeinanderfolgenden Fälle wegen geringen oder fehlenden Kulturwachstums keine G-Bandenfärbung erfolgt. Trotzdem ist die Anzahl der 75 untersuchten Metaphasen verschiedener In-

dividuen verglichen mit bis dahin bekannten Arbeiten über G-Bandenschemata als relativ hoch anzusehen:

G-Bandenschemata nach:	Anzahl der untersuchten Metaphasen:
DRETS et al.1971	15
SCHNEDL 1971	keine Angaben
SHIRAISHI et al.1972	5o
BIGGER et al.1972	keine Angaben
CHRZ et al.1972	3o
PARIS-Schema 1971	keine Angaben
SEABRIGHT et al.1975	15
RAY et al.1975	25

Es wurde bereits erwähnt, daß für die Bandenanalyse nur Zellen im Metaphasestadium gewählt wurden; als Kriterium dafür nahmen wir, daß bei den Chromosomen beide Chromatide noch getrennt sichtbar waren. Damit bewegten sich die Kontraktionszustände von der frühen bis zur späten Metaphase.

Um einen Querschnitt der routinemäßig erzielten Chromosomendarstellung zu bekommen, führten wir die Untersuchungen an einer fortlaufenden Reihe durch und verzichteten so auf eine Auswahl besonders hochdifferenzierter Bandenmuster ("Maximal-Schema"). Von den 8 Metaphasen, die von jedem der untersuchten Fälle fotographiert waren, verwendeten wir jeweils die qualitativ beste zur Auswertung.

6.2.2. AUSWERTUNGSMETHODE

In folgenden Auswertungsschritten wurde jedes Chromosom der 24 Tafeln auf sein Bandenmuster hin untersucht:

1. in der Übertragung des Bandenmusters auf ein aufgelegtes Transparentpapier, die von zwei Untersuchern getrennt durchgeführt wurde;
2. im gemeinsamen Bewerten der gezeichneten Muster und der zugehörigen Chromosomenfotografie bei der Eintragung der Banden in ein Paris-Schema;
3. bei der Erfassung der Häufigkeit, in der die einzelnen Banden auftraten;

Die Ergebnisse beruhten damit, im Gegensatz zu den bei einzelnen Arbeitsgruppen angewandten Meßverfahren, auf der subjektiven visuellen Einschätzung der Chromosomenbanden. Eine "relative Objektivierung" war durch die Beteiligung von zwei Beobachtern in den ersten beiden Auswertungsschritten gegeben. Im Folgenden sollen Vorteile und Nachteile von Meßmethoden gegenüber der visuellen Methode aufgezeigt werden:

a) PHOTOMETRISCHE (CASPERSSON et al.1970) und DENSITOMETRISCHE (CHRZ et al.1972) METHODE:

Im Unterschied zur visuellen Methode ist die Intensität der Fluoreszenz bzw. der Dunkelfärbung quantifizierbar.

Die Lokalisation der Bandenmitte bezogen auf die jeweilige Chromosomenlänge ist mit den "peaks" des Kurvenverlaufs möglich; die Ausdehnung der Banden ist jedoch wegen der kontinuierlichen Übergänge nicht exakt festzulegen und hängt von dem jeweils gewählten Schwellenwert ab, was die aufgeführte Skizze verdeutlichen soll:

Nach den Erfahrungen von CASPERSSON et al.1970 und CHRZ et al.1972 war eine genaue Bestimmung der Zentromerposition mit diesem Meßverfahren nicht möglich.

b) LÄNGENMESSUNG (MANOLOV et al.1971) und OPISOMETRISCHE MESSUNG (SEABRIGHT et al.1975):

Eine Einschränkung der Genauigkeit dieses Verfahrens liegt in dem begrenzten Auflösungsvermögen des menschlichen Auges, das bei den graduellen Übergängen keine exakte Bestimmung der Bandengrenzen zuläßt.

Eine zusätzliche Schwierigkeit ergibt sich bei der Abmessung der hellen terminalen Banden der G-Bandenmuster, die sich gegen den hellen Hintergrund besonders schlecht abheben.

Bei fotographisch dunklen Abzügen überstrahlen die dunklen Banden die hellen Banden und können dadurch breiter gewertet werden.

Demzufolge sind auch bei den Meßverfahren die Ergebnisse subjektiv beeinflußt, wenn auch in geringerem Maße als bei der visuellen Methode, und zwar in der Photometrie durch die Wahl eines bestimmten Schwellenwertes und in der Längenmessung durch die jeweils zu treffende Entscheidung der Bandengrenze.

Die Betrachtung der publizierten Schemata zeigte, daß trotz quantitativer Methoden die unserer Erfahrung nach typischen Merkmale der verschiedenen Bandenmuster oft nicht wiedergegeben werden konnten. In diesem Sinne fanden wir eine Bestätigung in der bereits auf PLATON und ARISTOTELES zurückgehenden, später für die Gestalttheorie wichtigen These, daß das Ganze mehr sei als die Summe seiner Teile. Daß darüberhinaus eine allzugroße Detailltreue sich nachteilig auf das Charakteristische des Gesamtbildes auswirken kann bzw. das Gesamtbild dadurch an Prägnanz verliert[1] kann gegen die Meßmethoden und für die visuelle Methode gewertet werden.

6.2.3. SCHEMATISCHE DARSTELLUNG

Für eine bessere Vergleichsmöglichkeit lehnten wir uns der äußeren Form nach an das Paris-Schema an und übernahmen auch in der Bezeichnung die allgemein akzeptierte Paris-Nomenklatur. Im Folgenden sollen wesentliche Punkte unserer schematischen Darstellung unter Einbeziehung bisheriger Bandenschemata kritisch erläutert werden:

1. Bei der Darstellung der Bandenform behielten wir der Übersichtlichkeit wegen die rechteckige Form der Paris-Banden bei, wenngleich dies dem tatsächlichen optischen Eindruck der Banden nicht gerecht wurde. Demgegenüber vermittelten Schemata wie von BIGGER et al.1972 oder PRIEUR et al.1973 mit ihrer kugeligen bzw. abgerundeten Bandenform ein rea-

[1] WERTHEIMER 1925, zitiert in GREGORY,R.L. 1972;

listischeres Bild.

2. Die unterschiedliche Anfärbung der Banden konnte nur in den "Kurvenschemata" von CASPERSSON et al.1970 und von CHRZ et al.1972 quantitativ dargestellt werden. Der Nachteil dieser Darstellungsform war, daß sie dem Auge ungewohnter und schlechter einprägsam war, als ein "bildhaftes" Chromosomenschema und daher ungünstiger für die praktische Verwendung in der klinischen Routinediagnostik erschien.

MANOLOV et al.1971 und BIGGER et al.1972 verwendeten zur Darstellung der unterschiedlichen Farbintensität 5 verschiedene Grautöne und entschieden jeweils welcher Grauton für die einzelnen Banden charakteristisch war. Auch im Chromosomenschema von CHRZ et al.1972 kamen Farbabstufungen zum Ausdruck, jedoch war das methodische Vorgehen dabei nicht näher beschrieben.

Da sich die verschiedenen Farbabstufungen auf visuellem Weg nicht standardisieren lassen, sondern ihre Einschätzung abhängig von der Umgebung der betreffenden Bande ist, verzichteten wir auf eine Zuordnung der einzelnen Banden zu unterschiedlichen Grautönen. Wir bewerteten bei unseren Untersuchungen lediglich, ob die Banden sichtbar oder nicht sichtbar waren. Diese Auswertungsmethode war zwar relativ grob, erforderte jedoch nur eine einfache Entscheidung und war daher sehr verläßlich. Die Häufigkeit, in der die einzelnen Banden sichtbar waren, wurde in den drei aufgeführten Darstellungsformen ausgedrückt:

schwarz, in mehr als 5o % sichtbar

mit Kreisen, in 25 bis 5o % sichtbar

gepunktet, in weniger als 25 % sichtbar,

Diese Darstellungsform kann als Maß für die durchschnittliche Schwärzung angesehen werden.

Die im Paris-Schema "schraffierten" variablen Bereiche wurden in unserem Schema entsprechend den obigen Kriterien eingetragen und lediglich mit dem Symbol V gekennzeichnet.

3. Bei bisherigen Arbeiten waren zur Veranschaulichung der Variabilität in Abhängigkeit vom Spiralisationsgrad teilweise mehrere Schemata angegeben(das "Maximal-Schema und Durchschnitts-Schema" bei BIGGER et al.1972 oder das "komplexe, durchschnittliche und einfache Schema" bei SEABRIGHT et al. 1975). Mit unserer quantitativen schematischen Darstellung war es möglich, die unter den Metaphasechromosomen beobachtete Variabilität in einem Schema aufzuzeigen.

6.3. DISKUSSION DER ERGEBNISSE IM VERGLEICH ZUM PARIS-SCHEMA UND ZUM SUPPLEMENT 1975

Anläßlich der vielfältigen Fortschritte, die sich seit der Paris-Konferenz 1971 in der Zytogenetik ereignet hatten, fanden 1974 in New York und 1975 in Edinburgh Konferenzen statt, die sich mit den neuen Entwicklungen befaßten und das Resultat als "Ergänzungen zur Paris-Konferenz 1971" veröffentlichten. Wesentliche Punkte darin waren:

Ergänzungen zur Nomenklatur, z.B. die Bezeichnung von Bruchpunkten innerhalb einer Bande;

ein Code zur Abkürzung der verschiedenen Bandentechniken und Modifikationen, z.B. GTG für G-Banden mit Trypsin-Vorbehandlung und Giemsa-Färbung; Abkürzung der WALTHER-Methode demgemäß GSL für G-Banden mit Salzlösung und Leishman-Färbung;

Abkürzungen für die verschiedenen Spezies, z.B. HSA für homo sapiens, GGO für Gorilla;

Überarbeitung des Paris-Schemas und Gegenüberstellung des überarbeiteten Schemas (s.Abb.21) mit den Bandenschemata der höheren Primaten;

Für die vergleichenden Untersuchungen der Bandenmuster von Menschen und Primaten wurde das Paris-Schema folgendermaßen modifiziert:

die flächenmäßige Verteilung der schwarzen und weißen Banden zeigte eine deutliche Zunahme der weißen Banden;

viele Banden erfuhren Änderungen in ihrer Position und Ausdehnung;

es zeigte Änderungen in der Bandenzahl: einige Banden

waren in Unterbanden aufgespalten, zwei Banden waren nicht aufgeführt (s. 6.3.6.);

Die vorgenommenen Veränderungen waren weder eingehend erläutert noch interpretiert. Auch fanden sich keine Angaben über das den Änderungen zugrundeliegende Untersuchungsmaterial und das methodische Vorgehen zur Erstellung des modifizierten Schemas.

Diese Modifikation des Paris-Schemas stand uns erst 1976, nach Abschluß unserer Untersuchungen zur Verfügung. Aus diesem Grunde wurde sie nicht bei den vorbekannten Bandenschema'a im Literaturteil abgehandelt. Als Überarbeitung des Paris-Schemas, von dem wir bei der vorliegenden Arbeit ausgegangen waren, waren die Ergebnisse des SUPPLEMENT-Schemas für uns von besonderer Bedeutung. Daher werden zu der nun folgenden Diskussion unserer Ergebnisse hinsichtlich Zentromerregion, variable Regionen, terminale Regionen, Landmarken, Aufspaltung und Verschmelzung von Banden, sowie Lage und Ausdehnung der Banden sowohl die Ergebnisse des Paris-Schemas 1971, als auch die Ergebnisse des modifizierten Schemas des SUPPLEMENTS 1975 herangezogen und gewertet.

Zur besseren Vergleichsmöglichkeit wurden die im Ergebnisteil einzeln aufgeführten 24 Chromosomentypen hier zusammengestellt (s.Abb.22) und dem Schema des SUPPLEMENTS 1975 gegenübergestellt.

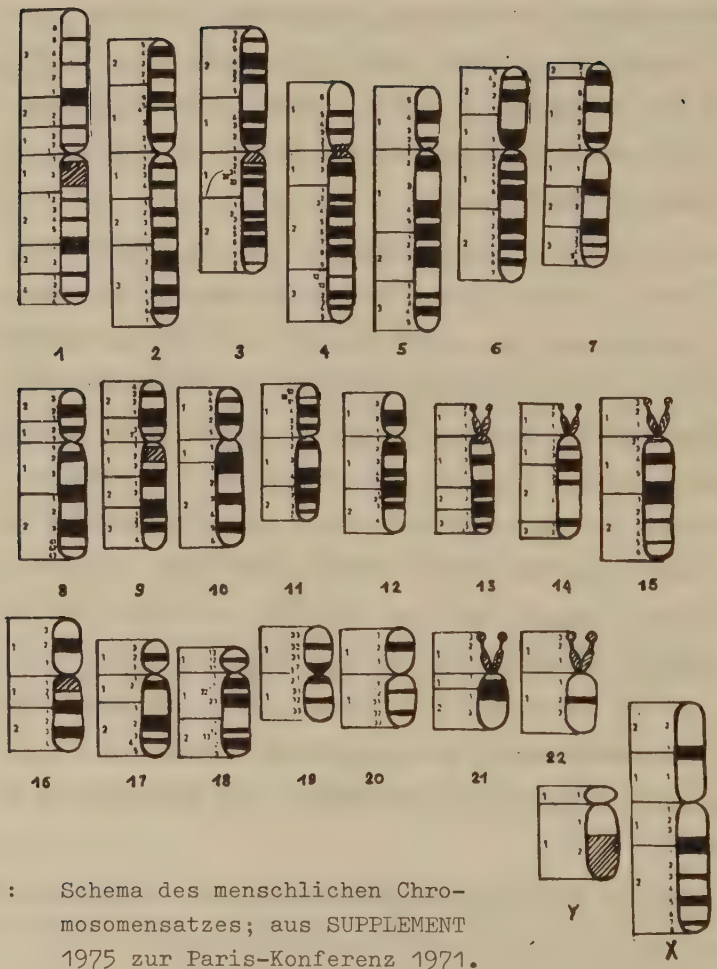


Abb. 21 : Schema des menschlichen Chromosomensatzes; aus SUPPLEMENT 1975 zur Paris-Konferenz 1971. (zusammengestellt v.E.DREYSSIG)

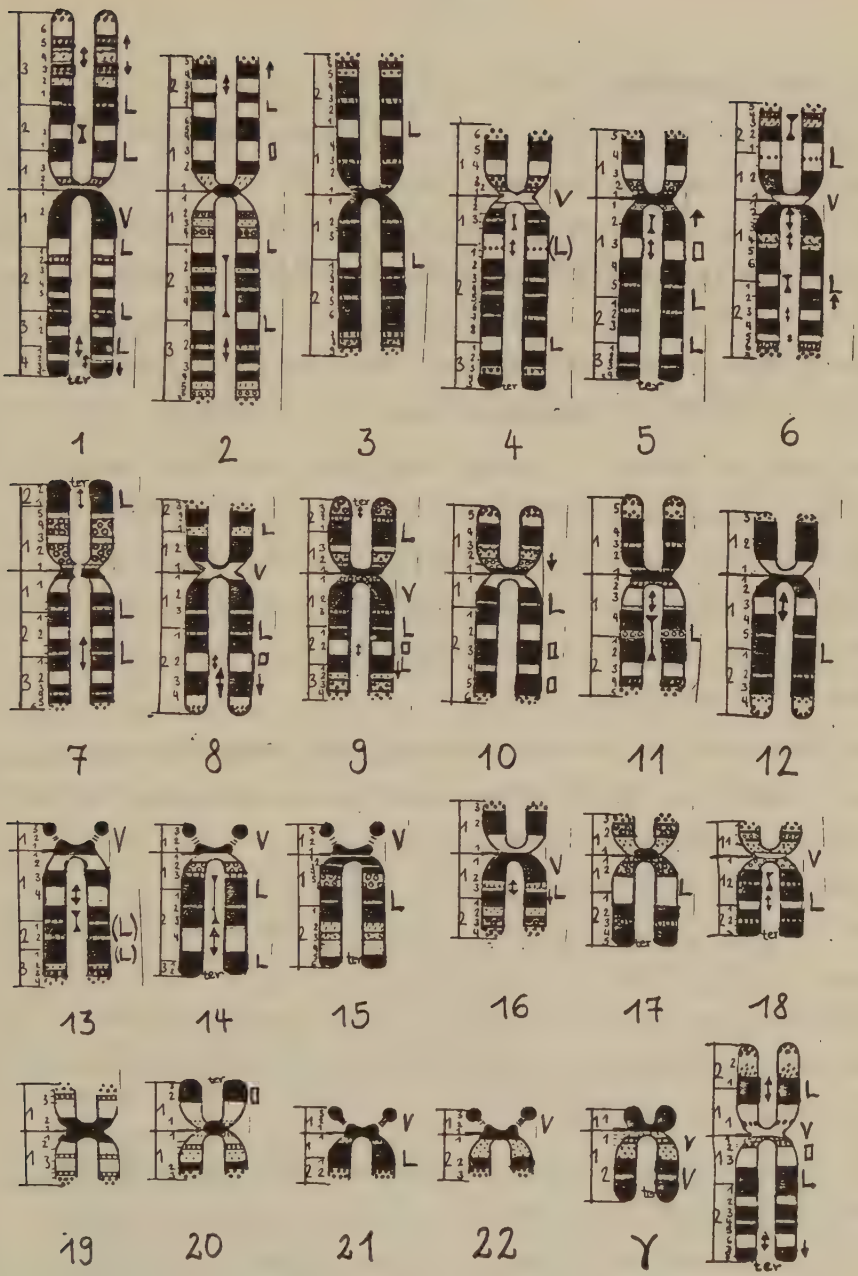


Abb.22 : Erarbeitetes Schema für die mit der G-Bandenmethode nach WALTHER gefärbten Metaphasechromosomen.

6.3.1. ZENTROMER-REGION

Nach unseren Untersuchungen war die Zentromer-Region überwiegend dunkel angefärbt. Wie bereits in 6.1. erwähnt, konnten wir die Annahme von WALTHER, daß es sich bei dieser Technik um eine C-G-Bandenmethode (WALTHER 1975) handle, nicht bestätigt finden, da bei einigen Chromosomentypen diese Region entweder sehr häufig (X, 18) oder sogar überwiegend (4, 6, 8) hell dargestellt war.

Trotzdem lag hierin ein wesentlicher Unterschied zum Paris-Schema (dessen Zentromer-Darstellung nur auf Ergebnissen der Q-, nicht aber der G- und R-Bandenfärbung beruht) und zum SUPPLEMENT 1975, in denen die Zentromer-Regionen abgesehen von den als variabel bezeichneten Regionen (s.6.3.2.) durchwegs hell eingetragen waren.

Auffällig war, daß die verschiedenen Zentromer-Konfigurationen (s.S.44) bei den 24 Chromosomentypen in unterschiedlicher Häufigkeit vorkamen. Während manchmal eine spezielle Konfiguration deutlich überwog, z.B. in 1 dreiecksförmig zu q gerichtet, in 3 hantelförmig, traten bei anderen Chromosomentypen mehrere Formen nebeneinander auf, z.B. in 5 und 1o sämtliche Formen. Die verschiedenen Zentromerkonfigurationen sind als Folge von Verschmelzungen mit angrenzenden dunklen Banden zu erklären.

Die Ausprägung der Zentromer-Region variierte bei verschiedenen Individuen (konstitutionelle Normvarianten). Auch in verschiedenen Zellen eines Individuums fanden sich variable

Darstellungen der Zentromer-Region, die als färberische Variabilität bzw. in Abhängigkeit vom Kontraktionsgrad zu verstehen sind.

Nachdem die G-Bandenfärbung nach WALTHER, wie die bisherigen G-Bandenmethoden, keine vollständige Aussage über die Zentromerregion erlaubt, ist zur Beurteilung des Zentromer-Heterochromatins und seiner Varianten, wie perizentrische Inversionen, Deletionen, Duplikationen, eine C-Bandendarstellung unerläßlich.

6.3.2. VARIABLE REGIONEN

Die im Paris-Schema dargestellten variablen Regionen wurden im SUPPLEMENT 1975 unverändert übernommen. Im Folgenden wird eine Erläuterung und eine vergleichende tabellarische Zusammenstellung der von uns beobachteten variablen Regionen mit denen des Paris-Schemas bzw. des SUPPLEMENTS 1975 gegeben.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen der bisherigen G-Bandentechniken fanden wir bei der WALTHER-Methode das zentromernahe Heterochromatin der Chromosomen 1 und 16, sowie Yq12 konstant dunkel und kontrastreich dargestellt, so daß eine relativ gute Beurteilung dieser Bereiche im Hinblick auf Varianten auch ohne spezielle C-Bandendarstellung möglich war. Demgegenüber war das zentromernahe Heterochromatin bei Chromosom 9 wider unseren Erwartungen (WALTHER 1975) nicht konstant dunkel angefärbt, sondern zeigte in 39% eine helle Anfärbung. In den bisherigen Schemata war außer bei CHRZ

et al.1972 eine helle Bande eingetragen. Die unterschiedliche Anfärbung dieser Region bei der WALTHER-Färbung führten wir auf die Färbetechnik, nicht auf individualtypische Unterschiede zurück. Für die Beurteilung der häufig auftretenden Polymorphismen dieser Region muß auf eine C-Bandendarstellung zurückgegriffen werden.

Die variablen Regionen zeigten häufig eine Längendifferenz, die zum Teil das Doppelte des zugehörigen Homologen betrug, meist jedoch geringeren Ausmaßes war.

Die von den Fluoreszenztechniken bekannten variablen zentromernahen Regionen der Chromosomen 3 und 4 ließen sich erwartungsgemäß bei der WALTHER-Färbung nicht spezifisch darstellen. Bei Chromosom 4 beobachteten wir eine wohl färbetechnisch bedingte teils helle, teils dunkle Darstellung dieser Region.

Die Kurzarmregionen der akrozentrischen Chromosomen 13,14, 15, 21 und 22 waren bei der G-Bandenfärbung nach WALTHER überwiegend folgendermaßen angefärbt:

Zentromer und p11 - dunkel
Satellitenarme p12 - hell
Satelliten p13 - dunkel
} soweit darstellbar

Variabilität in diesen Regionen beobachteten wir vor allem in Form von Größendifferenzen des Zentromerheterochromatinblocks und der Satelliten. Längenvariationen der Banden 21p11 und 22p11 ließen sich am vorhandenen Material nicht nachweisen. Da diese variablen Bereiche, die bekanntlich innerhalb eines Individuums konstant auftreten und vererbt

werden (Bedeutung als zytologische Marker) wesentlich häufiger und differenzierter mit der Fluoreszenztechnik dargestellt werden können muß zur Markeranalyse eine Q-Bandenfärbung angewandt werden.

VARIABLE REGIONEN DES PARIS-SCHEMAS	ERGEBNISSE DER WALTHER-METHODE	
	Anfärbung	Ausdehnung
1q12	dunkel	variabel
3q11	dunkel	---
4p11 > 4q11	variabel (59% dunkel, 38% hell)	---
9q12	variabel (57% dunkel, 39% hell)	variabel
13p11 > 13q11	dunkel	variabel
14p11	dunkel	variabel
15p11	dunkel	variabel
16q11	dunkel	variabel
21p11	dunkel	---
22p11	dunkel	---
Yq12	dunkel	variabel
Satellitenarme p12 von 13,14,15,21,22 (soweit darstellbar)	hell	variabel
Satelliten p13 von 13,14,15,21,22 (soweit darstellbar)	dunkel	variabel

Zusätzlich zu den aufgeführten variablen Bereichen konnten wir in den Zentromerregionen der Chromosomen 6,8,X und Y eine unterschiedliche Anfärbung feststellen, die wir wie bei Chromosom 4 auf färbespezifische Faktoren zurückführten.

ZUSÄTZLICHE VARIABLE REGIONEN BEI DER WALTHER-FÄRBEMETHODE:	
6p11 6q11	(52% hell, 48% dunkel)
8p11 8q11	(58% hell, 41% dunkel)
Xp11 Xq11	(62% dunkel, 35% hell)
Yq11	(in 21 Fällen dunkel, in 18 " hell)

Befunde, die auf zusätzliche konstitutionelle Varianten des menschlichen Karyotyps hinweisen, konnten wir bei Anwendung der G-Bandenmethode nach WALTHER nicht beobachten.

6.3.3. TERMINALE REGIONEN

Abgesehen von den variabel eingetragenen kurzen Armen der D- und G-Gruppe und dem dunkel dargestellten distalen Bereich des langen Y-Arms waren die terminalen Regionen im Paris-Schema, sowie im Schema des SUPPLEMENTS 1975 alle hell dargestellt. Dies erklärte sich damit, daß bei der Erarbeitung des Paris-Schemas die Ergebnisse der R-Bandenfärbung, in der sämtliche terminalen Regionen dunkle Anfärbung aufweisen, miteinbezogen worden waren. Bei Anwendung der WALTHER-Färbung waren die Chromosomenenden in folgender Weise dargestellt:

1. andeutungsweise, in Form eines von der proximal anliegenden dunklen Bande ausgehenden helleren Ausläufers (2p und q; 3p und q; 4p; 5p; 6p und q; 7q; 8p; 9q; 10q; 11q; 12p; 13q; 16p und q; 17p; 18p; 19p und q; 20q; 21q; 22q;)
2. keine Darstellung der hellen terminalen Banden; die proximal anliegende dunkle Bande schien das Ende des Chromosoms zu bilden (1q; 4q; 5q; 7p; 9p; 14q; 15q; 17q; 18q; 20p; Yq; Xq;)

   Diese beiden Darstellungsformen waren bei den 24 Chromosomentypen in unterschiedlicher Häufigkeit vertreten; nach der jeweils überwiegenden Form sind die Chromosomentypen in 1.bzw. 2.aufgeführt und im Schema eingezeichnet.

Eine mögliche Ursache der unvollständig oder nicht dargestellten hellen Banden, die teilweise mikroskopisch noch erkennbar waren, sahen wir in der, durch den fotografischen Prozeß verstärkten, Überstrahlung der hellen Banden durch dunkle Banden. Während in den differenzierteren Bandenmustern der weniger kontrahierten Metaphasechromosomen,

vor allem aber in dem Prometaphasebeispiel die Chromosomenenden öfter ausläufermäßig hell angedeutet waren, war bei den stärker kontrahierten Chromosomen häufiger die 2. Darstellungsweise zu beobachten.

Demzufolge beruhte die im Vergleich zum Paris-Schema abweichende Darstellung der terminalen Banden in unserem Schema auf der schlechten Darstellungsmöglichkeit dieser Regionen bei Anwendung von G-Bandenmethoden, nicht speziell auf der WALTHER-Färbemethode.

Bei folgenden Chromosomentypen sah man im Terminalbereich vor allem der schwächer kontrahierten Chromosomen eine im Paris-Schema nicht aufgeführte , schmale dunkle Bande :

1: in p an 1o% der untersuchten Fälle;
8: in q an 24% " " "
1o: in p an 5% " " "
11: in p vereinzelt
12: in q an 14% der untersuchten Fälle;
X: in p an 18% " " "

Diese "terminalen dunklen Banden" konnten wir bei Chromosom 8 und 11 im SUPPLEMENT 1975 bestätigt finden, in dem jeweils eine schmale dunkle Bande zusätzlich eingezeichnet war und zwar aufgrund einer Aufspaltung der hellen terminalen Bande 8q24 bzw. 11p15. Bei Kenntnis des SUPPLEMENTS 1975 sind die übrigen bei uns beobachteten "terminalen dunklen Banden" wohl ebenfalls als Unterbanden der hellen terminalen Banden zu verstehen, wobei die helle terminale Unterbande bei G-Bandenfärbungen jeweils nicht sichtbar ist, und nicht,

wie anfänglich vermutet, als Kontrastierung der hellen Chromosomenenden.

Die hellen terminalen Chromosomenbanden sind klinisch von großer Bedeutung, da darin syndromspezifische Segmente enthalten sein können, z.B. das DOWN-Syndrom in 21q22. Nachdem diese Bereiche bei der WALTHER-Methode nur unbefriedigend dargestellt werden , muß zum Außschluß terminaler Aberrationen an die Durchführung einer R-Bandenfärbung gedacht werden.

6.3.4. LANDMARKEN

Einige Landmarken des Paris-Schemas waren nach unseren Erfahrungen nicht als für die Bandenmuster besonders charakteristische und prominente Banden dargestellt(4q21,11q21,13q21, 13q31). Dabei war mit zunehmendem Kontraktionsgrad eine Verschlechterung der Abgrenzbarkeit verbunden. Andererseits erschienen uns die Banden 2p13, 5q13, 8q22, 9q22, 1oq23,1oq25 und Xq13, die im Paris-Schema bzw. im SUPPLEMENT 1975 nicht als Landmarken hervorgehoben waren, überwiegend als charakteristische und für die Identifizierung der jeweiligen Chromosomen nützliche Merkmale. Entgegen der bisher teilweise vertretenen Auffassung, daß dunkle Banden bessere Erkennungsmerkmale abgeben als helle Banden(BIGGER et al.1972, RAY et al.1975), handelte es sich dabei sowohl um helle als auch um dunkle Banden.

Das Auftreten der genannten Befunde hielten wir nicht für eine färbebedingte Eigenheit der WALTHER-Methode, sondern für eine G-Bandentypische Darstellungsweise, die im Paris-Schema, das aus Ergebnissen der Q-,G-undR-Bandenfärbung zusammengestellt war, nicht berücksichtigt worden war.

6.3.5. Aufspaltung von Banden

Obwohl sich unsere Untersuchungen auf Chromosomen im Metaphasestadium beschränkten, konnten wir mehrfach "zusätzliche", d.h. im Paris-Schema nicht aufgeführte Banden beobachten (s. auch 6.3.3.). Die nebenstehende Tabelle zeigt an, an welchen Paris-Banden und in welcher Häufigkeit wir eine Aufspaltung in Unterbanden feststellten und vergleicht die Ergebnisse mit denen des SUPPLEMENTS 1975.

Von Aufspaltungen waren vor allem breite und prominente Banden betroffen und zwar helle (=h) ebenso wie dunkle (=d) Banden. Dabei war die Häufigkeit bei den verschiedenen Chromosomentypen unterschiedlich groß; bisweilen waren die Unterbanden relativ oft sichtbar (8q24 in 24%, 18p1 in 27%), teilweise waren sie nur vereinzelt (V= weniger als 5%) zu beobachten (s. Tabelle).

Wie aus der Tabelle ersichtlich, fanden einige unserer Befunde im SUPPLEMENT 1975 Bestätigung,z.B. bei der Unterteilung von 18p1, 18q12, 19p13, 19q13; ferner die bereits im Kapitel Terminale Regionen (6.3.3.) abgehandelten Banden 8q24 und 11p15. Die Regionen 18q2 und 2oq1 zeigten im SUPPLEMENT ebenfalls Unterbanden, die jedoch im Gegensatz zu unseren Beobachtungen einer anderen Paris-Bande zugeordnet waren. Die im SUPPLEMENT 1975 angegebenen Aufspaltungen der Banden 3q13 und 4q31 hatten wir nicht beobachten können.

Anstatt der 322 Banden im Paris-Schema und der 342 Banden im SUPPLEMENT 1975 konnten wir maximal 378 Banden erkennen. Die

Paris-Schema			Unterbanden im SUPPLEMENT 1975	Unterbanden in unserem Schema	Häufigkeit
1	1p31	d	———	31.1,31.2,31.3	1o%
	1q31	d	———	31.1,31.2,31.3	V
2	2q22	d	———	22.1,22.2,22.3	V
	2q32	d	———	32.1,32.2,32.3	V
3	3q13	d	13.1,13.2,13.3	———	
	3q21	h	———	21.1,21.2,21.3	V
4	4q13	d	———	13.1,13.2,13.3	5%
	4q21	h	———	21.1,21.2,21.3	V
	4q31	h	31.1,31.2,31.3	———	
6	6p21	h	———	21.1,21.2,21.3	V
7	7q21	d	———	21.1,21.2,21.3	V
	7q31	d	———	31.1,31.2,31.3	V
8	8q21	d	———	21.1,21.2,21.3	15%
	8q24	h	24.1,24.2,24.3 x	wie i.SUPPL.75	24%
9	9q21	d	———	21.1,21.2,21.3	1o%
1o	1oq21	d	———	21.1,21.2,21.3	5%
11	11p15	h	15.1,15.2,15.3 x	wie i.SUPPL.75	V
X	Xp11	h	———	11.1,11.2,11.3	11%
13	13q21	d	———	21.1,21.2,21.3	5%
15	15q21	d	———	21.1,21.2,21.3	V
18	18p1	h	1.1,1.2,1.3	wie i.SUPPL.75	27%
	18q12	d	12.1,12.2,12.3	wie i.SUPPL.75	6%
	18q21	h	21.1,21.2,21.3	———	
	18q22	d	———	22.1,22.2,22.3	6%
19	19p13	h	13.1,13.2,13.3	wie i.SUPPL.75	1o%
	19q13	h	13.1,13.2,13.3	zweifach unterteilt:13.1 usw. u.13.11,.12,.13	V
2o	2oq11	h	———	11.1,11.2,11.3	8%
	2oq13	h	13.1,13.2,13.3	———	
Y	Yq11	h	———	11.1,11.2,11.3	V
	Yq12	d	———	12.1,12.2,12.3	V

x siehe auch 6.3.3. Terminale Banden

Variabilität in der Bandenzahl führten wir auf die auch innerhalb des Metaphase-Stadiums unterschiedlichen Kontraktionszustände zurück. Die bereits bei den Metaphasechromosomen erkennbare Tendenz der Bandenaufspaltung machte deutlich, daß umgekehrt in kontrahierteren Chromosomen feinere Banden von möglicherweise großer klinischer Bedeutung verborgen sind. Bei Verdacht auf minimale Strukturaberrationen sollte daher eine detaillierte Analyse an Chromosomen früherer Mitosestadien durchgeführt werden.

6.3.6. VERSCHMELZUNG VON BANDEN

Als Gegenstück zu den differenzierteren Bandenmustern der frühen Metaphasechromosomen infolge von Bandenaufspaltung konnten wir bei den stärker kontrahierten, späten Metaphasechromosomen eine Vereinfachung der Muster durch Verschmelzung von Banden beobachten. Mit zunehmender Kontraktion waren vor allem schmale Banden schlechter abgrenzbar; schmale helle Banden waren teilweise nur noch in Form einer Einziehung zwischen den beiden angrenzenden dunklen Banden angedeutet. Insgesamt ging mit der Verringerung der Bandenzahl eine flächenmäßige Zunahme der dunklen Banden gegenüber den hellen Banden einher. Dies war ein für die G-Bandenfärbung nach WALTHER charakteristischer Befund. Im Gegensatz dazu kann man bei enzymatischen G-Bandenfärbungen mit zunehmender Kontraktion eine "Auflösungstendenz" schmaler dunkler Banden in breite helle Banden beobachten.

Bei der Verschmelzung von Banden unterschieden wir 3 Formen:

1. Durch Verschmelzung der beiden angrenzenden dunklen (meist relativ breiten) Banden war die schmale helle Bande dazwischen nicht mehr sichtbar. Insgesamt waren 11 helle Banden davon betroffen (2p15, 3p23, 3q12, 6q13, 11p13, 11q21, 12q15, 12q22, Xq24, 14q22, 15q13). Die im Paris-Schema dargestellte Abgrenzung der hellen parazentrischen Banden p11 und q11 war nach unseren Beobachtungen selten erkennbar, da meist eine Verschmelzung der angrenzenden dunklen Banden erfolgte.

2. Wesentlich seltener war infolge Verschmelzung zweier heller Banden die schmale dunkle Bande dazwischen nicht sichtbar (1q22, Xq12, 15q23).

3. Einzelne Banden konnten infolge einer häufig auftretenden diffusen grauen Anfärbung eines Chromosomenabschnitts nicht klar abgegrenzt werden, wie im distalen Bereich von 1p, 7q oder in 17p.

Im Gegensatz zu unseren Befunden waren im SUPPLEMENT 1975 zwei Banden des Paris-Schemas nicht eingetragen: die Bande Xq12 ist zwar in der Bandennumerierung enthalten, jedoch im Schema nicht als dunkle Bande eingezeichnet; die helle Bande 6p11 kommt im SUPPLEMENT 1975 nicht zur Darstellung. Für diese Abweichungen des SUPPLEMENTS1975 zum Paris-Schema haben wir keine Erklärung.

Durch die Verschmelzung von Banden war die Identifizierung der Chromosomen nicht beeinträchtigt. Andererseits bedeuten Bandenverschmelzungen eine erhebliche Beeinträchtigung bei der Analyse im Hinblick auf einen Ausschluß von Segmentaberrationen.

6.3.7. LAGE UND AUSDEHNUNG DER BANDEN

Da wir bei unseren Untersuchungen keine Meßmethoden angewandt hatten, konnten wir, was Veränderungen in Lage und Ausdehnung der Banden gegenüber dem Paris-Schema anbetraf, nur die beobachtete Tendenz, nicht jedoch das genaue Ausmaß der Veränderungen wiedergeben. Da mit einer Größenänderung der Banden oft eine Lageveränderung der benachbarten Banden verbunden war, werden die beiden Punkte gemeinsam abgehandelt.

Im SUPPLEMENT 1975 waren in sämtlichen Chromosomentypen beträchtliche Abweichungen hinsichtlich Lage und Ausdehnung der Banden zum Paris-Schema dargestellt. Insgesamt konnte man eine deutliche Verbreiterung sämtlicher heller Banden auf Kosten der dunklen Banden feststellen. Teilweise war die Relation von hellen und dunklen Banden so abgewandelt, daß sich ein stark verändertes Gesamtbild des betreffenden Chromosoms ergab, z.B. in 2 und 8.

Im Vergleich dazu waren die bei uns beobachteten Veränderungen weniger gravierend und erstreckten sich auf eine geringere Bandenzahl. Wir konnten folgende Möglichkeiten unterscheiden:

1. Eine Reihe von hellen Banden, jedoch im Vergleich zum SUPPLEMENT 1975 insgesamt weniger, waren breiter als im Paris-Schema dargestellt, dafür die angrenzenden dunklen Banden schmäler. Bei den folgenden Ergebnissen stehen die Abkürzungen h für helle, d für dunkle Banden und S für Befunde, die wir im SUPPLEMENT 1975 bestätigt fanden.

verbreiterte Banden:	verschmälerte Banden:	
4q21 h	4q13 d	S
5q12 h	5q13 d	S
6q15 h	6q12-14 d	S
11q13 h	11q14-22 d	S
13q14 h	13q21-31 d	S
14q24 h	14q21-23 d	S
18q21 h	18q12 d	S

Danach waren entgegen unseren Erwartungen (Betonung der dunklen Banden bei der WALTHER-Färbung) ausschließlich helle Banden auf Kosten der dunklen Banden verbreitert dargestellt. Sämtliche Befunde lagen in Übereinstimmung mit dem SUPPLEMENT 1975.

2. Teilweise stand die Verbreiterung oder Verschmälerung von Banden im Zusammenhang mit einer Lageveränderung der benachbarten Banden:

1p34 h	breiter, dafür	1p35	weiter	distal	gelegen	u. 1p13 weiter proximal	
1q42 h	" "	1q43	"	"	"		
2p23 h	" "	2p24	"	"	"	S	
8q22 h	" "	8q23	"	"	"		
9q22 h	" "	9q31	"	"	"		
Xq26 h	" "	Xq27	"	"	"	S	
16q13 h	" "	16q21	"	"	"		
6q21 h	schmäler "	6q22	weiter	proximal	gelegen		

Diesbezüglich fand sich nur für zwei unserer Befunde Bestätigung im SUPPLEMENT 1975.

3. Bestimmte Banden waren breiter oder schmäler dargestellt ohne die anliegenden Banden in Mitleidenschaft zu ziehen:

breiter als im Paris-Schema	schmäler als im Paris-Schema:
1q41 d	1p22 h
2q32 d	2q22(-24) d S
6q23 h	6p22(-24) d
6q25 h S	
7p21 d	
7q31 d	
8q23 d	
12q13 h	
Xp12 d	

Die genannten Änderungen in Lage und Ausdehnung der Banden hatten Auswirkungen auf das Gesamtbild des betreffenden Chromosomenbandenmusters. Die veränderte Relation der einzelnen Banden zueinander war teilweise in den entsprechenden Prometaphase-Beispielen bestätigt.

Insgesamt war, wenn auch bedeutend weniger ausgeprägt als im SUPPLEMENT 1975, auch bei den nach der WALTHER-Technik gefärbten Chromosomen eine zunehmende Ausdehnung der hellen Banden im Vergleich zum Paris-Schema zu verzeichnen. Dies bedeutete einen Fortschritt im Hinblick auf eine realitätsgerechte Darstellung der hellen Banden, die wohl auch wegen der ursprünglich zu geringen Wertbeimessung ("interbanden" bei DRETS et al. 1971, BIGGER et al. 1972) im Paris-Schema zu wenig berücksichtigt waren. Methodisches Ziel von Bandenfärbungen wäre eine reelle Bandendarstellung, die bisher weder mit den enzymatischen G-Banden-

darstellungen (enzymatische Einwirkung auf Kosten der Breite dunkler Banden) noch mit der G-Bandentechnik nach WALTHER (Tendenz zur "Überfärbung" heller Banden) optimal gelungen ist.

6.4. ZUSAMMENFASSENDE WERTUNG DES SCHEMAS

Für die Bewertung der Gültigkeit unseres G-Bandenschemas gegenüber dem Paris-Schema bzw. dem 1975 überarbeiteten Paris-Schema (SUPPLEMENT 1975) erschienen uns die folgenden Punkte von Bedeutung:

Im Gegensatz zum Paris-Schema (über die Entstehung des Schemas im SUPPLEMENT 1975 liegen keine Angaben vor), das aus den Ergebnissen von Q-, G- und R-Bandenfärbung zusammengestellt war, beruhte unsere schematische Darstellung auf den Untersuchungen einer speziellen G-Bandenmethode. Demgemäß konnten prinzipielle Abweichungen unserer schematischen Darstellung z.B. bei der Darstellung der terminalen Regionen (Ergebnisse der R-Bandenfärbung im Paris-Schema) oder der variablen Regionen(Ergebnisse der Q-Bandenfärbung im Paris-Schema) mit dem entsprechend geringeren Informationsgehalt einer Färbemethode gegenüber der Kombination dreier Färbemethoden erklärt werden.

Bestimmte Änderungen zum Paris-Schema, wie die Überwiegend dunkle Zentromer-Darstellung oder die Anfärbung mancher variabler Regionen, führten wir auf für die G-Bandenmethode nach WALTHER typische Färbeeigenschaften zurück. Auch das

Überwiegen der dunklen Banden bei der WALTHER-Färbung im Gegensatz zum SUPPLEMENT 1975 sahen wir als ein färbespezifisches Merkmal der WALTHER-Färbung an.

Anders als die genannten methodisch bedingten Abweichungen erklärten wir die Differenzen in der Anzahl der Banden (Paris-Schema 322 Banden, SUPPLEMENT 1975 342 Banden, eigenes Schema 378 Banden) im wesentlichen mit dem unterschiedlichen Kontraktionszustand der untersuchten Metaphasechromosomen; die höhere Bandenzahl unseres Schemas deutete auf den durchschnittlich geringeren Kontraktionszustand unseres Untersuchungsmaterials hin.

Änderungen hinsichtlich der Lage und/ oder Ausdehnung einzelner Banden im Vergleich zum Paris-Schema konnten wir vielfach in unserem Prometaphase-Beispiel und im SUPPLEMENT 1975 bestätigt finden. Diese Abweichungen sahen wir in der diesbezüglich unzutreffenden Darstellung des Paris-Schemas begründet.

Bei der Betrachtung unserer schematischen Darstellung fiel uns auf, daß die gezeichneten Bandenmuster für die 24 Chromosomentypen unterschiedlich "gut" das nach unseren Erfahrungen charakteristische Bandenmuster wiedergaben. Z.B. fanden wir in unserer schematischen Darstellung der Chromosomen 2,7,15,17,X unsere Erfahrungswerte bedeutend zutreffender veranschaulicht als im Paris-Schema oder im SUPPLEMENT 1975. Insgesamt ließ sich feststellen, daß die schematische Darstellung umso zutreffender war, je geringer die Abhängigkeit der Bandenmuster vom Kontraktionsgrad war.

6.5. BEDEUTUNG DER BEBANDETEN METAPHASE-CHROMOSOMEN FÜR DIE KLINIK

Die Darstellung bebandeter Metaphase-Chromosomen hatte für die diagnostische Zytogenetik einen wesentlichen Fortschritt gebracht. Die folgende Aufstellung zeigt, daß unter den bearbeiteten Fällen nicht nur numerische Aberrationen sicher diagnostiziert werden konnten, sondern auch chromosomale Strukturveränderungen erfaßt werden konnten, was mit der konventionellen Methode nicht oder nur ungenügend möglich war.

numerische Aberrationen:

Trisomie 21	1o Fälle	(7 ♂ ,3 ♀)
Trisomie 13	1 Fall	
ULLRICH-	4 Fälle	
TURNER-Syndrom		
KLINEFELTER-"	1 Fall	

strukturelle Aberrationen:

balanzierte Translokation 2 Fälle: t(1oq-;1p+)
t(1op-;5p+);

perizentrische Inversion des Y 1 Fall: inv (Y)(p1 q12);

Deletion des distalen Teils von Yq: 1 Fall: del (Y)(q12-);

Variante des ULLRICH-TURNER-Syndroms: 1 Fall:
Mosaik: 45,XO / 45,X + Chromosomenfragment;

Bereits am Beispiel der strukturellen Aberrationen wurde deutlich, daß für eine exakte Bruchpunktbestimmung oder Identifizierung kleiner Chromosomenfragmente die Analyse

von Metaphase-Chromosomen nicht ausreichend ist. Dies führte zu der Notwendigkeit Chromosomenanalysen an den hochdifferenzierten Prophase- bzw. Prometaphase-Chromosomen durchzuführen (Hinweis auf Untersuchungen von Prometaphasen und Prometaphase-Schema bereits 1971 bei SCHNEDL s.S.17/18). YUNIS et al.1978 und FRANCKE et al.1979 entwickelten spezielle G-Bandenfärbungen nach Zellsynchronisation, die die Mitosen in früheren Stadien festhielten. Bei der Analyse der Prophasechromosomen konnten bis zu 400% mehr Banden festgestellt werden, als mit den bisherigen Bandenmethoden. Beide Arbeitsgruppen erarbeiteten detaillierte Schemata, die unter Anwendung der Paris-Nomenklatur die Aufspaltung der Banden von der Metaphase bis zur Prophase kenntlich machten.

Mit dieser Entwicklung hatten sich die diagnostischen Möglichkeiten bedeutend erweitert. Außerdem war ein neuer Ausgangspunkt für die Chromosomenforschung im Hinblick auf die Genlokalisation geschaffen.

Für die Routinediagnostik ist vorerst durch den vielfach größeren Aufwand der analytischen Arbeit und technische Schwierigkeiten infolge der zahlreichen Überlagerungen und Verdrehungen der Chromosomen eine Grenze gesetzt. In jedem Fall ist jedoch ein Ausblick auf eine befriedigendere Diagnostik bisher nicht definierbarer chromosomaler Defekte gegeben.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurden G-Bandenmuster an Metaphase-Chromosomen der ersten 1oo Lymphozytenkulturen, die mit der vorbehandlungsfreien G-Bandenmethode nach WALTHER gefärbt waren. Unter Bezugnahme auf das Paris-Schema wurde die Ausprägung der einzelnen Banden rein qualitativ erfaßt und quantitativ ausgewertet. Aus den Ergebnissen wurde eine schematische Darstellung erarbeitet, die das typische Erscheinungsbild der Chromosomen wiedergibt. Dazu erfolgte eine detaillierte Charakterisierung der G-Bandenmuster und ausführliche Erläuterung hinsichtlich Übereinstimmung und Abweichung der Muster vom Paris-Schema. Mögliche Ursachen dieser Differenzen zum Paris-Schema bzw. zu der mittlerweile erfolgten Überarbeitung des Paris-Schemas im SUPPLEMENT 1975 und der aufgezeigten Variabilität der Bandenmuster wurden diskutiert. Auf die diagnostischen Möglichkeiten bei der Analyse bebandeter Metaphase-Chromosomen wurde im Rahmen der unter den 1oo Fällen festgestellten pathologischen Befunde eingegangen.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Arrighi, F.E., Hsu, T.C.: Localisation of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics 1o, 81-86 (197o).

Aula, P., Saksela, E.: Comparison of areas of Quinacrine Mustard fluorescence and modified Giemsa staining in human metaphase chromosomes. Exp. Cell Res. 71, 161-167 (1972).

Bigger, T.R.L., Savage, I.R.K., Watson, G.E.: A scheme for characterizing ASG banding and an illustration of its use in identifying complex chromosomal rearrangements in irradiated human skin. Chromosoma (Berl.) 39, 297-3o9 (1972).

Bigger, T.R.L., Savage, I.R.K.: Mapping G-bands on human prophase chromosomes. Cytogenet. Cell Genet. 15, 112-121 (1975).

Caspersson, T., Farber, S., Foley, G.E., Kudynowski, I., Modest, E.J., Simonsson, E., Wagh, U., Zech, L.: Chemical differentiation along metaphase chromosomes. Exp. Cell Res. 49, 219-222 (1968).

Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C.: Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. Exp. Cell Res. 62, 49o-492 (197o).

Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Modest, E. J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. Chromosoma (Berl.) 3o, 215-227 (197oc).

Caspersson, T., Lomakka, G., Zech, L.: The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes - distinguishing characters and variability. Hereditas (Lund) 67, 89-1o2 (1971b).

Caspersson, T.: TV-based analysis of Giemsa banded chromosomes. Exp. Cell Res. 92, 497-499 (1975).

Chicago Conference (1966): Standardization in human cytogenetics: Original article series, Vol.II, No.2. New York: The National Foundation 1966.

Chrz, R., Kozák, J., Málková, J.: The densitometric study of G-bands on human metaphase chromosomes. Humangenetik 18, 149-154 (1973).

Craig-Holmes, A.P., Shaw, M.W.: Polymorphism of human constitutive heterochromatin. Science 174, 7o2-7o4 (1971).

Craig-Holmes, A.P., Moore, F.B., Shaw, M.W.: Polymorphism of human C-band heterochromatin. I. Frequency of variants. Amer. J. hum. Genet. 25, 181-192 (1973).

Denver Report 196o: A proposed standart system of nomenklature of human mitotic chromosomes. Lancet I, 1o63-1o65 (196o).

Dewald, G.W., Robb, R.A., Gordon, H.: A computer-based videodensitometric system for studying banded human chromosomes, illustrated by the analysis of the normal morphology of chromosome.18. Amer. J. hum. Genet. 29, 37-51 (1977).

Drets, M.E., Shaw, M.W.: Spezific banding patterns of human chromosomes. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 68, 2o73-2o77 (1971).

Dreyssig, E.: Chromosomensegmentanalyse mit Hilfe der G- und R-Bandentechnik, Dissertation, München 198o.

Dutrillaux, B., Lejeune, J.: Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. C. R. Acad. Sci. (Paris), Série D 272, 2638-2640 (1971).

Dutrillaux, B., de Grouchy, J., Finaz, C., Lejeune, J.: Mise en evidence de la structure fine des chromosomes humains per digestion enzymatique (pronase en particulier). C. R. Acad. Sci. (Paris), Série D 273, 587-588 (1971).

Dutrillaux, B., Finaz, C., de Grouchy, J., Lejeune, J.: Comparison of banding patterns of human chromosomes obtained with heating, fluorescence, and proteolytic digestion. Cytogenetics 11, 113-116 (1972).

Dutrillaux, B.: Nouveau système de marquage chromosomique: les bandes T. Chromosoma (Berl.) 41, 395-402 (1973).

Endres, M., Stengel-Rutkowski, S., Murken, J.D.: Analysis of factors influencing G-band formation, using the trypsin-free method of WALTHER. Medical Genetics, 49-60 (1977).

Evans, H.J., Buckton, K.E., Sumner, A.T.: Cytological mapping of human chromosomes: Results obtained with Quinacrine fluorescence and the Acetic-Saline-Giemsa Techniques. Chromosome (Berl.) 35, 310-325 (1971).

Francke, U., Noelynn, O.: Quantitative analysis of high-resolution Trypsin-Giemsa bands on human prometaphase chromosomes. Humangenetik 45, 137-165 (1978).

Ford, C.E., Hamerton, J.L.: The chromosomes of man. Nature 178, 1020-1023 (1956).

Gagné, R., Tangay, R., Laberge, C.: Differential staining patterns of heterochromatin in man. Nature New Biol. (Lond.) 232, 29 (1971).

Gilbert, C.W., Muldal, S.: Measurement and computer system for karyotyping human and other cells. Nature New Biol. Vol. 230, 203-207 (1971).

Gregory, R.L.: Auge und Gehirn: Zur Psychophysiologie des Sehens, Fischer Taschenbuch Verlag, 145, (1972).

Hsu, T.C.: Mammalian chromosomes in vitro. 1. The karyotype of man. Journal of Heredity 43, 167-172 (1952).

Hsu, T.C., Pomerat, C.M.: Mammalion chromosomes in vitro. 2. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture. Journal of Heredity 44, 23-29 (1953).

Kato, H., Yosida, T.H.: Banding patterns of Chinese hamster chromosomes revealed by new techniques. Chromosoma (Berl.) 36, 272-28o (1972).

Kato, H., Moriwaki, K.: Factors involved in the production of banded structures in mammalian chromosomes. Chromosoma (Berl.) 38, 1o5-12o (1972).

Kim, My.A., Pfeiffer, R.A.: Die Heterochromatinverteilung der menschlichen Metaphasechromosomen. Humangenetik 14, 128-132 (1972).

Lomholt, B., Mohr, J.: Human karyotyping by heat-Giemsa staining and comparison with fluorchrome techniques. Nature New Biol. Vol. 234, 1o9-11o (1971).

London Report 1963: The London Conference on the normal human karyotype. Cytogenetics 2, 264-268 (1963).

Manolov, G., Manolova, Y., Levan, A.: The fluorescence pattern of the human karyotype. Hereditas (Lund) 69, 273-286 (1971).

Marimuthu, K.M., Selles, W.D., Neurath, P.W.: Computer analysis of Giemsa banding patterns and automatic classification of human chromosomes. American Journal of Human Genetics, Vol. 26, No. 3, 369-377 (1974).

Methods in human cytogenetics. Edited by Schwarzacher H.G., and Wolf, U. Springer-Verlag (1974).

Moeller, A., Nilsson, H., Caspersson, T., Lomakka, G.: Identification of human chromosome regions by aid of computerized pattern analysis. Exp. Cell Res. 7o, 475-478 (1971).

Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellmann, W.J., Battips, D.M., Hungerford, D.A.: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res. 2o, 613 (196o).

Murken, J.D., von Wilmowsky, H.: Die Chromosomen des Menschen. Verlag Werner Fritsch, München (1973).

Nowell, P.C.: Phytohämagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukozytes. Cancer Res.2o, 462 (196o).

Pardue, M.L., Gall, J.G.: Chromosomal localisation of mouse satellite DNA. Science 168, 1356-1358 (197o).

Paris Conference (1971): Standardization in human cytogenetics. Birth defects: Original article series, Vol.VIII, No 7. New York: The National Foundation 1972.

Paris Conference (1971), Supplement (1975): Standardization in human cytogenetics. Cytogenet. Cell Genet. 15, 2o1-238 (1975).

Patil, S.R., Merrick, S., Lubs, H.A.: Identification of each human chromosome with a modified Giemsa stain. Science 173, 821-822 (1971).

Penrose, L.S.: A note on the mean measurements of human chromosomes, Ann.Hum.Genet.28, 195-196, (1964).

Prieur, M., Dutrillaux, B., Lejeune,J.: Planches descriptives des chromosomes humains (analyse en bandes R et nomenklatur selon la conference de Paris (1971). Ann. Genet. (Paris) 16, 39-46 (1973).

Ray, M., Cunning, N., Hamerton, J.L.: The human complement after Trypsin pretreatment as compared to the Paris standard. Humangenetik 29, 29-34 (1975).

Savage, J.R.K., Watson, G.E., Bigger, T.R.L.: A brief comparison of the Paris Conference (1971) and Harwell Schemes for G-band numbering in human chromosomes. Chromosoma (Berl.) 41, 123-127 (1973).

Schnedl, W.: Banding pattern of human chromosomes. Nature New Biol. (Lond.) 233, 93-94 (1971).

Schnedl, W.: Analysis of the human karyotype using a reassoziation technique. Chromosoma (Berl.) 34, 448-454 (1971).

Schnedl, W.: Banding patterns in chromosomes. Internat.Review of Cytology, Suppl.4, 237-272 (1974).

Seabright, M.: A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 1971 II, 971-972.

Seabright, M.: The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man. Chromosoma (Berl.) 36, 2o4-21o (1972).

Seabright, M., Cooke, P., Wheeler, M.: Variation in Trypsin banding at different stages of contraction in human chromosomes and the definition, by measurement, of the "average" karyotype. Humangenetik 29, 35-4o (1975).

Shiraishi, Y., Yosida, T.H.: Differential staining of human chromosomes by treatment with urea. Proc.Jap.Acad.47, 729-732 (1971).

Shiraishi, Y., Yosida, T.H.: Banding pattern analysis of human chromosomes by use of a urea treatment technique. Chromosoma (Berl.) 37, 75-83 (1972).

Skorby, F.: Nomenklature: Additional Chromosome bands. Clinical Genetics 7, 21-28 (1975).

Sperling, K., Wiesner, R.: A rapid banding technique for routine use in human and comparative cytogenetics. Humangenetik 15, 349-353 (1972).

Sumner, A.T., Evans, H.J., Buckland, R.A.: New technique for distinguishing between human chromosomes. Nature New Biol. (Lond.) 232, 31-32 (1971).

Sun, N.C., Chu, E.H.Y., Chang, C.C.: staining method for the banding patterns of human mitotic chromosomes. Mammalian Chromosome News-letter 14, 26-28 (1973).

Tjio, J.H., Levan, A.: The chromosome number of man. Hereditas 42, 1-6 (1956).

Utakoji, T.: Differential staining patterns of human chromosomes treated with potassium permanganate. Nature (Lond.) 239, 168-170 (1972).

Waldeyer, W.: Über Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen. Arch. mik. Anat. 32, 1-22, (1888).

Walther, J.U., Stengel-Rutkowski, S., Murken,J.D.: Observations with G-banding of human chromosomes. Humangenetik 25, 49-51 (1974).

Walther, J.U.: Entwicklung einer vereinfachten Chromosomenfärbung zur G-Bandendarstellung und ihre Anwendung in der klinisch-zytogenetischen Diagnostik. Inaugural-Dissertation an der Ludwigs-Maximilian-Universität München (1975).

Wang, H.C., Fedoroff, S.: Banding in human chromosomes treated with Trypsin. Nature New Biol. (Lond.) 235, 52-53 (1972).

Yunis, J.J., Roldan, L., Yasmineh, W.G.,Lee, J.C.: Staining of satellite DNA in metaphase chromosomes. Nature (Lond.) 231, 532-533 (1971).

Yunis, J.J., Sanchez, O.: G-Banding and chromosome structure. Chromosoma (Berl.) 44 15-23 (1973).

Yunis, J., Sanchez, O.: The G-banded prophase chromosomes of man. Humangenetik 27, 167-172 (1975).

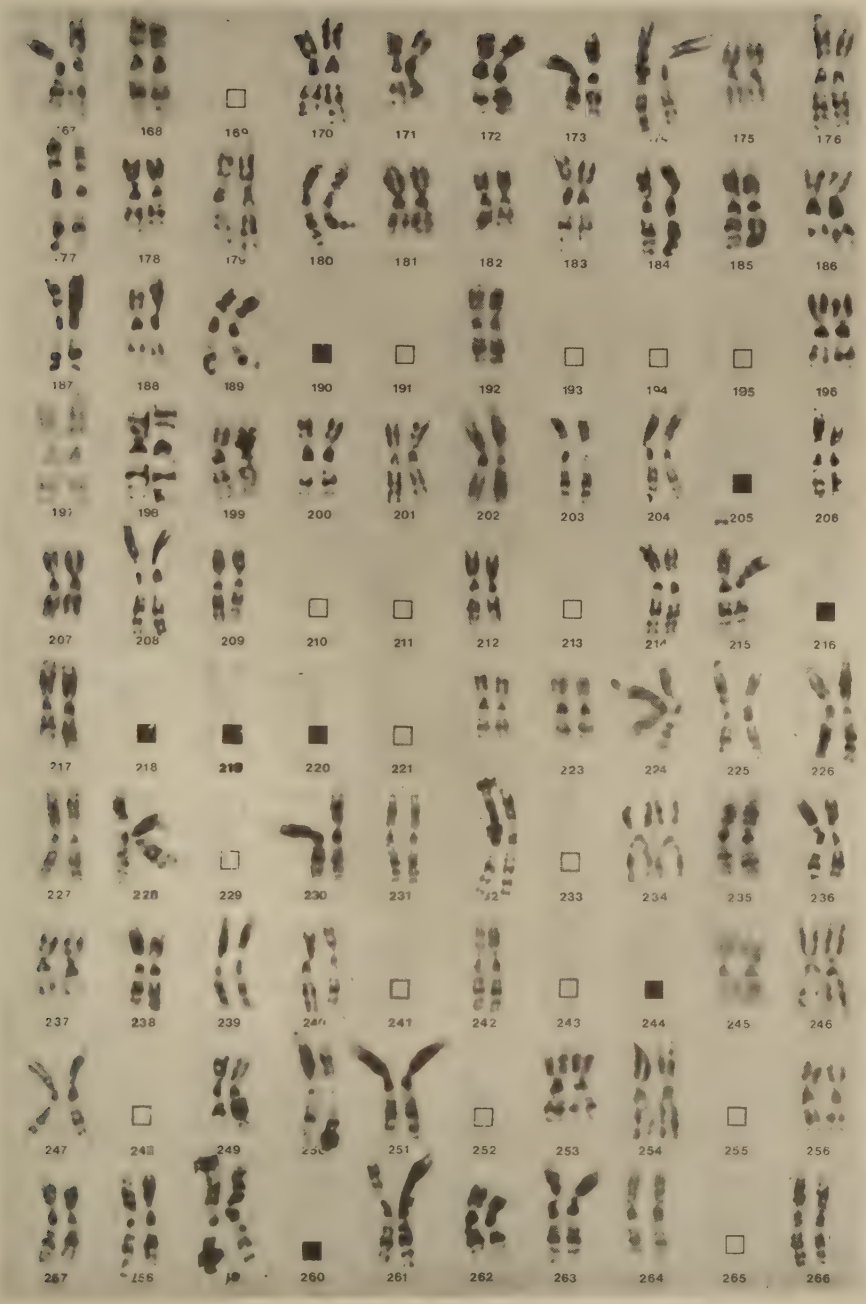
Yunis, J.J., Sawyer, J.R., Ball, D.W.: The charakterisation of high-resolution G-banded chromosomes of Man. Chromosoma (Berl.) 67, 293-3o7 (1978).

Yunis, J.J., Ball, D.W., Sawyer, J.R.: G-banding patterns of high-resolution human chromosomes 6-22, X and Y. Humangenetik 49, 291-3o6 (1979).

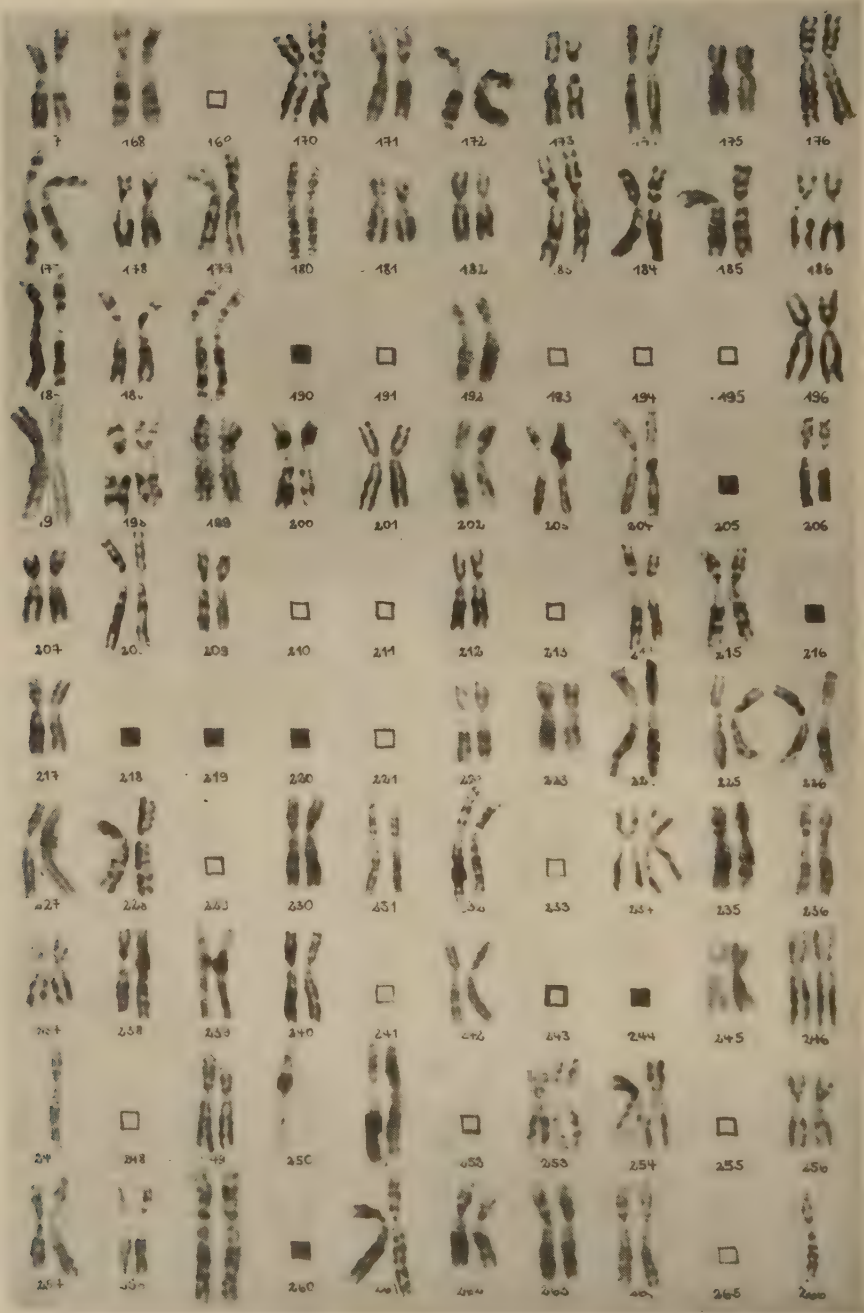
9. ANHANG

Die aufgeführten Tafeln sind von 30 x 19 cm^2 auf 24 x 14,5 cm^2 verkleinert.

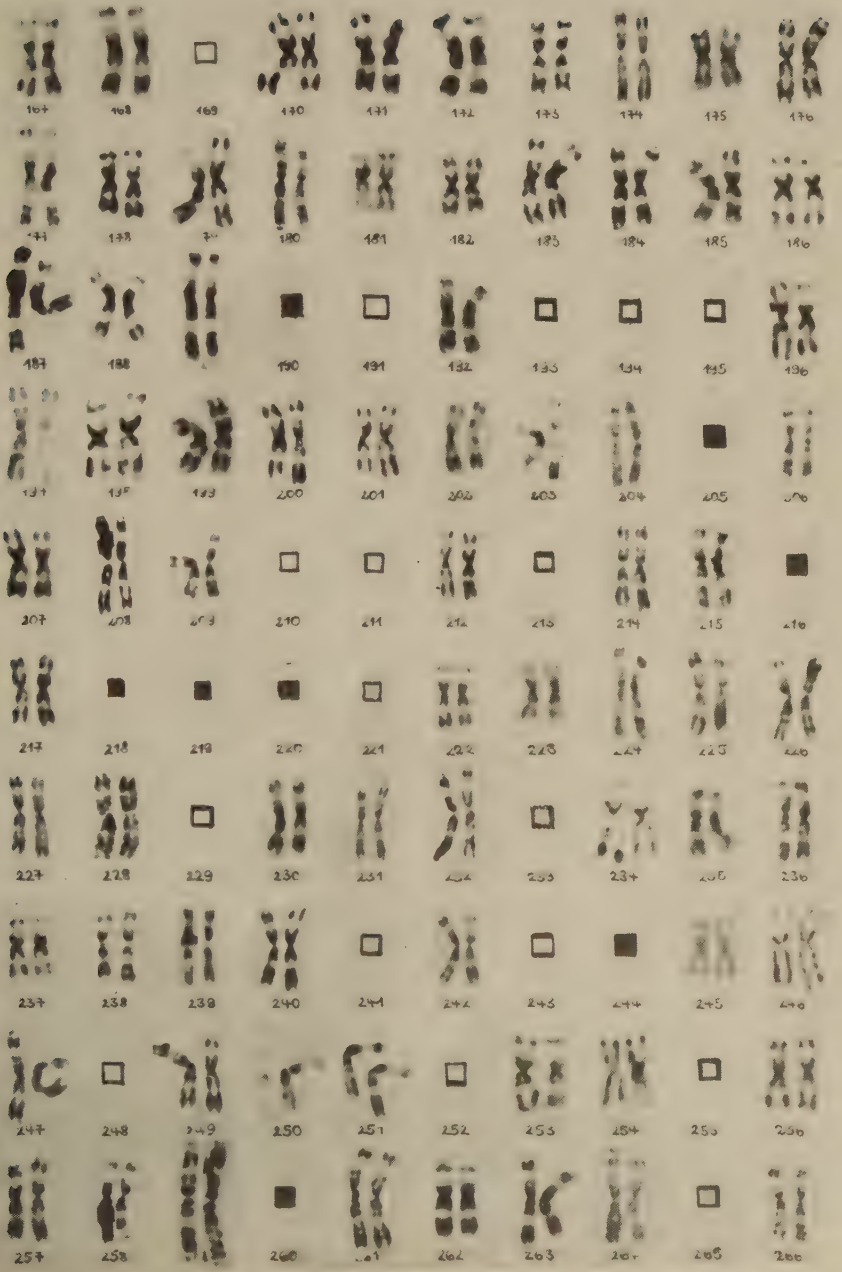
CHROMOSOM 1



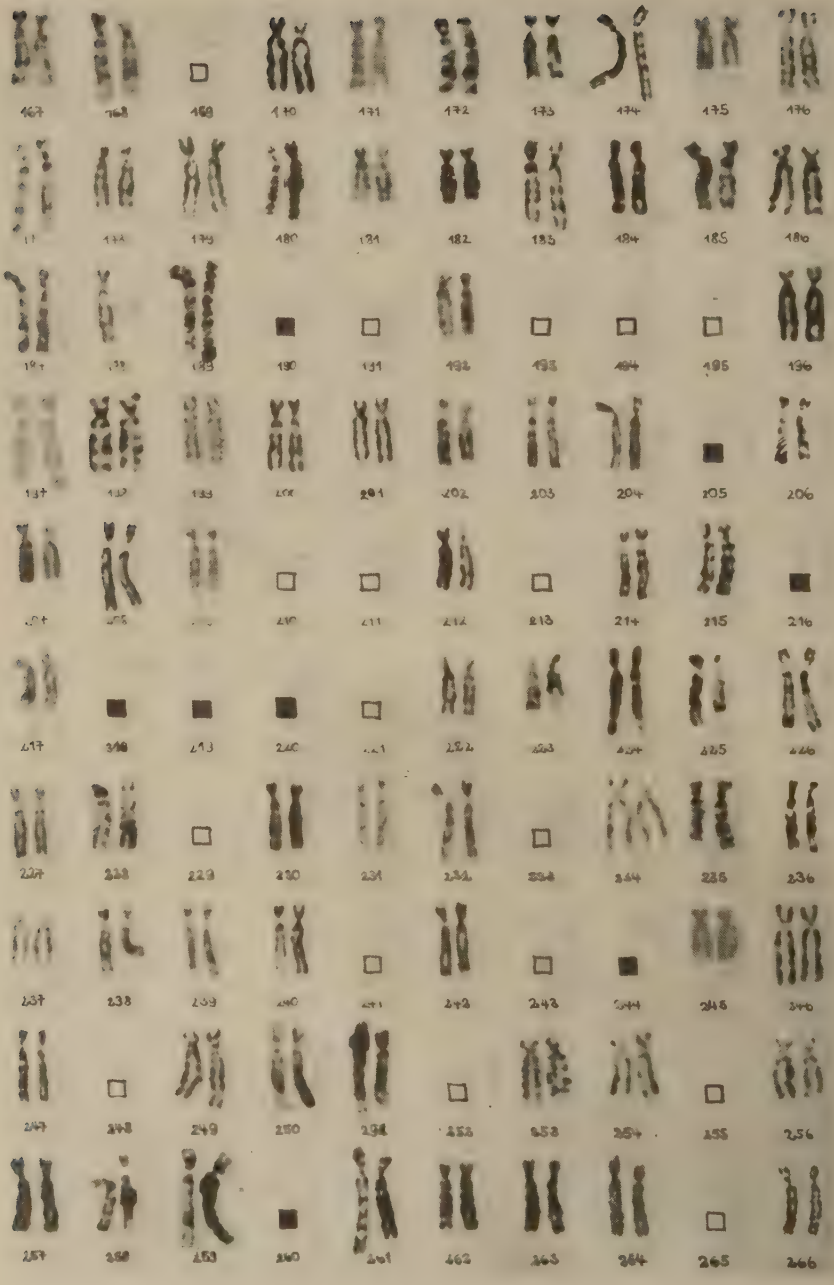
CHROMOSOM 2



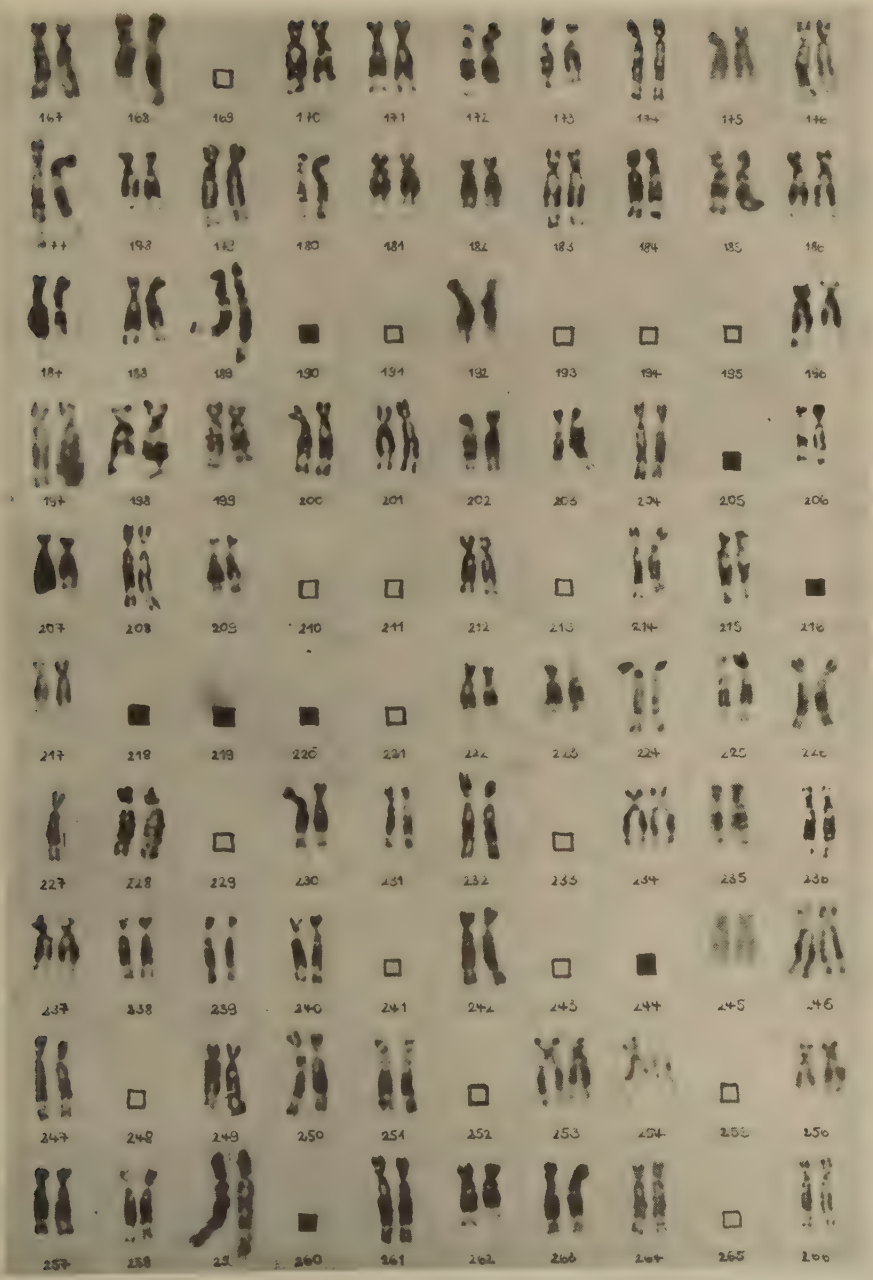
CHROMOSOM 3



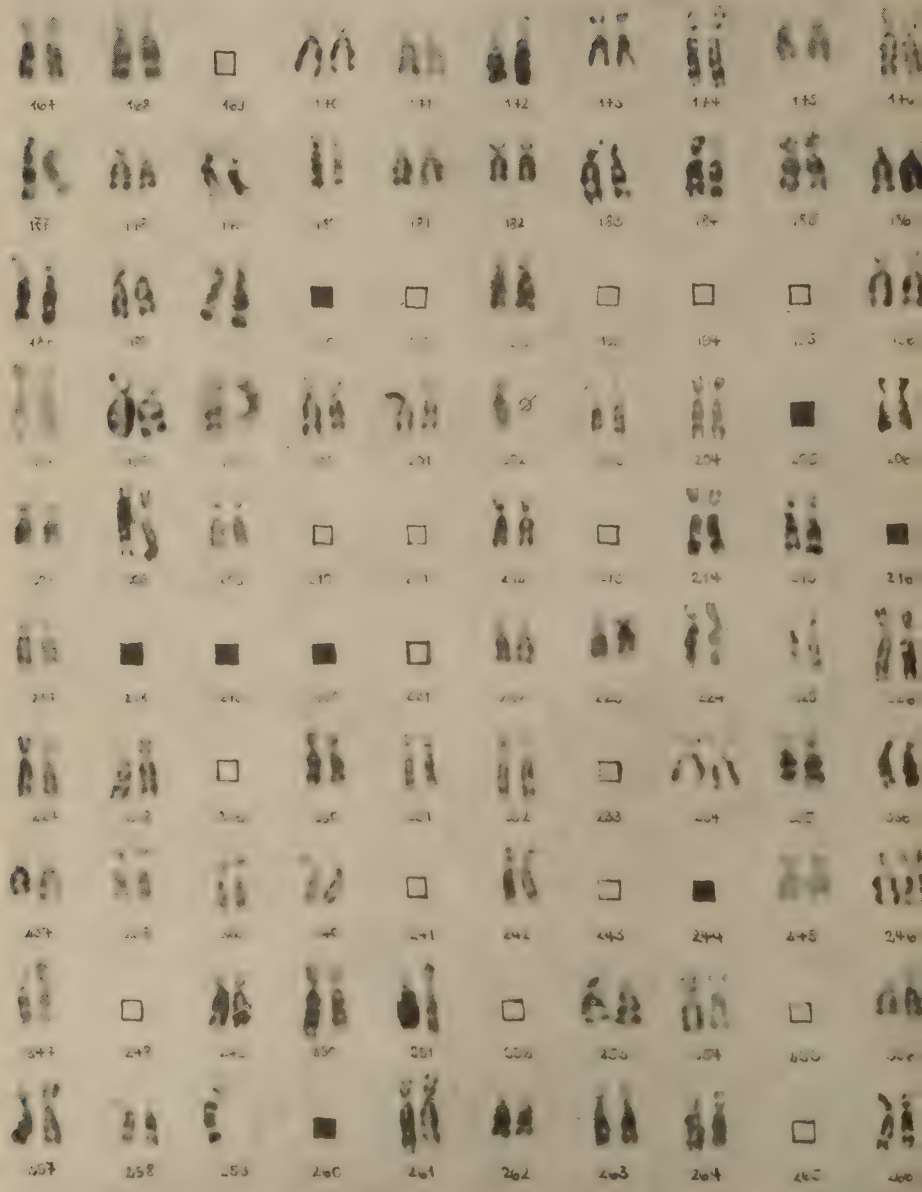
CHROMOSOM 4



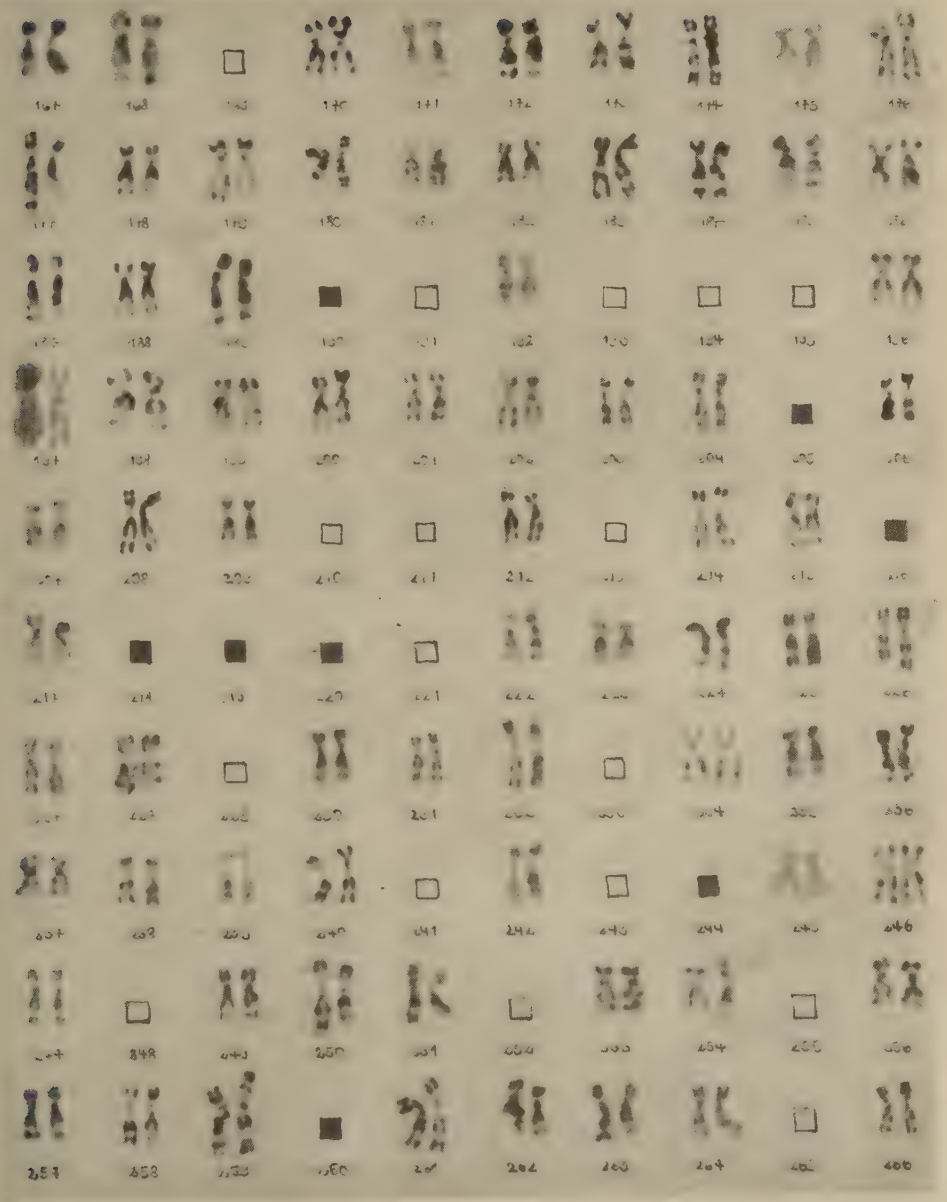
CHROMOSOM 5



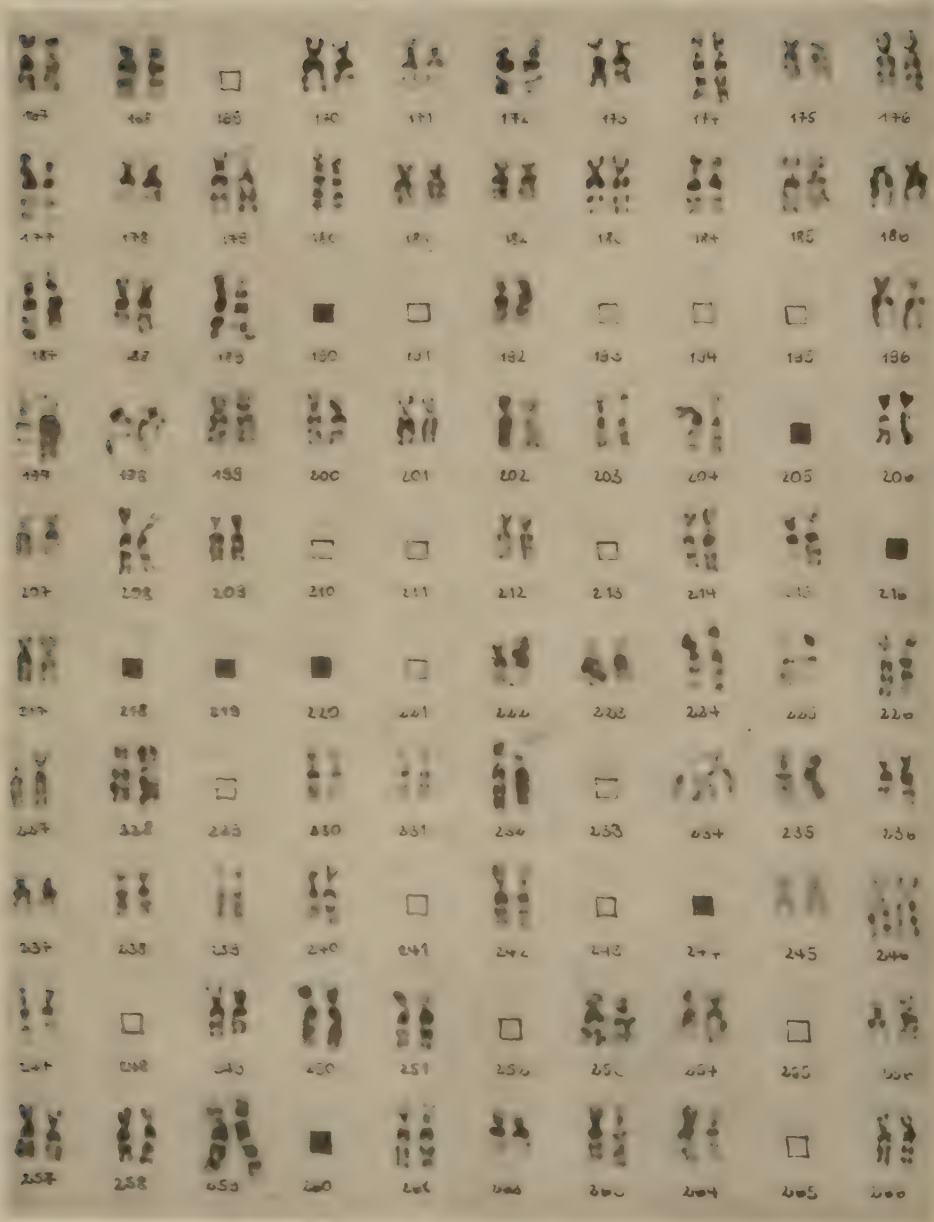
CHROMOSOM 8



CHROMOSOM 9

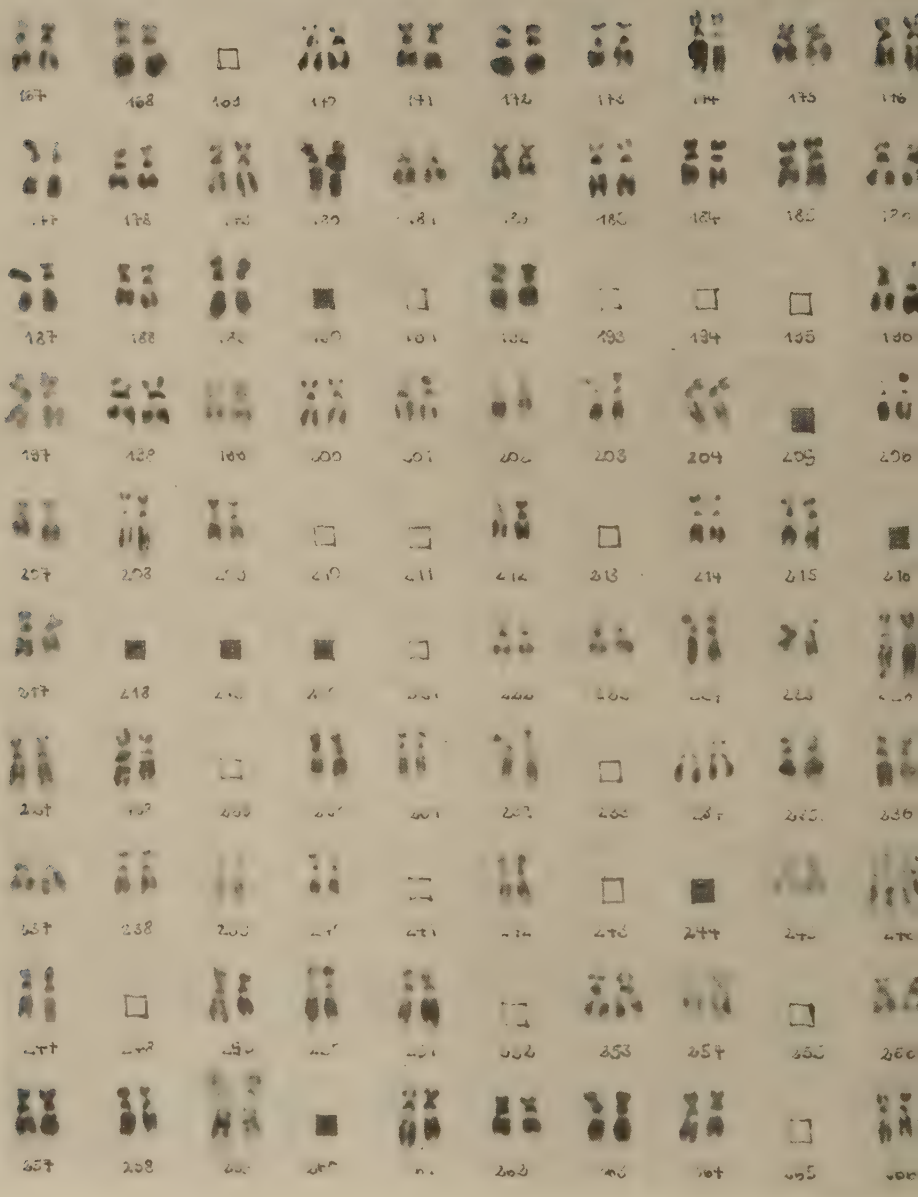


CHROMOSOM 1o



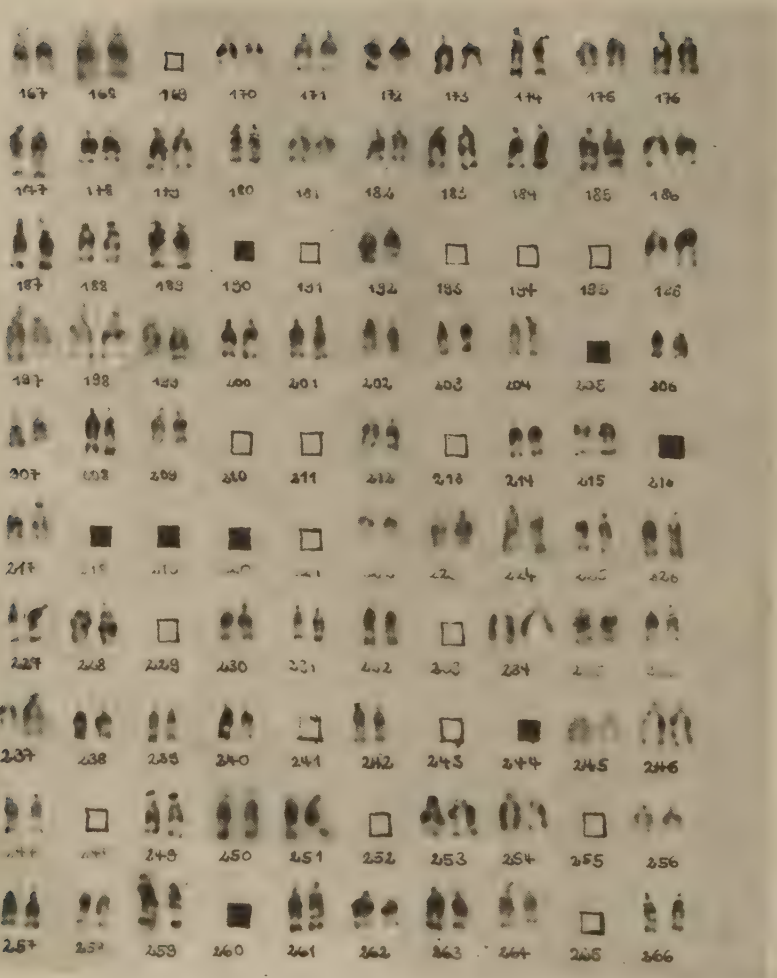
CHROMOSOM 11

CHROMOSOM 12



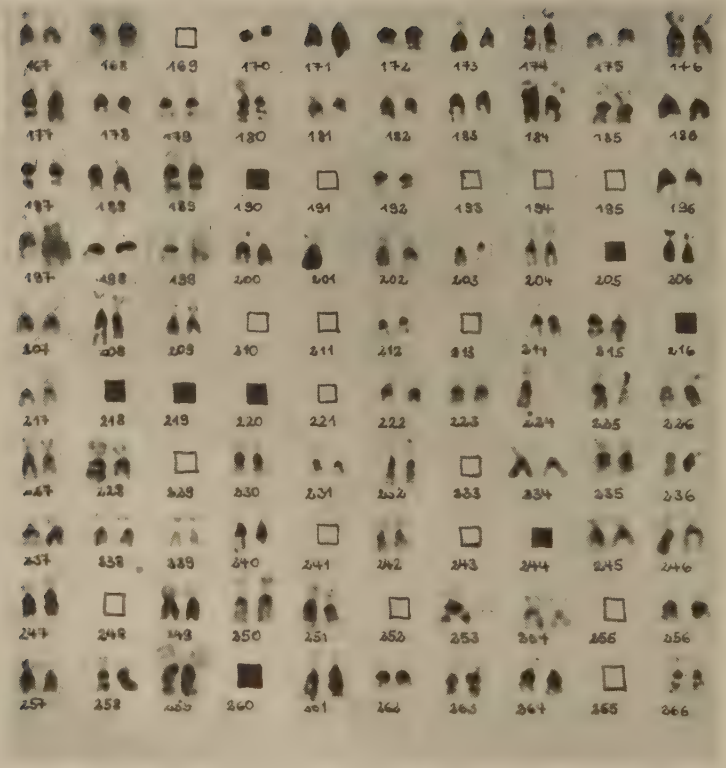
CHROMOSOM 13

CHROMOSOM 14

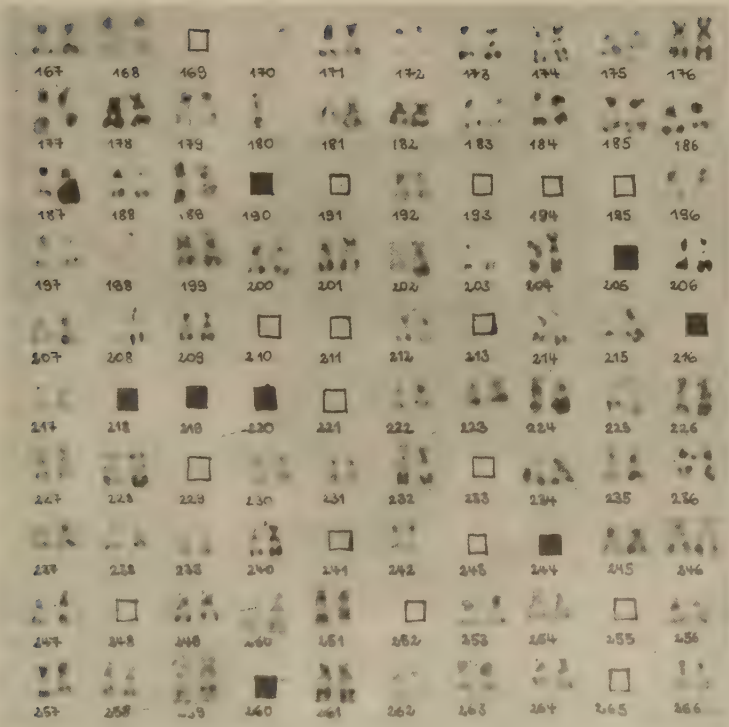


CHROMOSOM 15

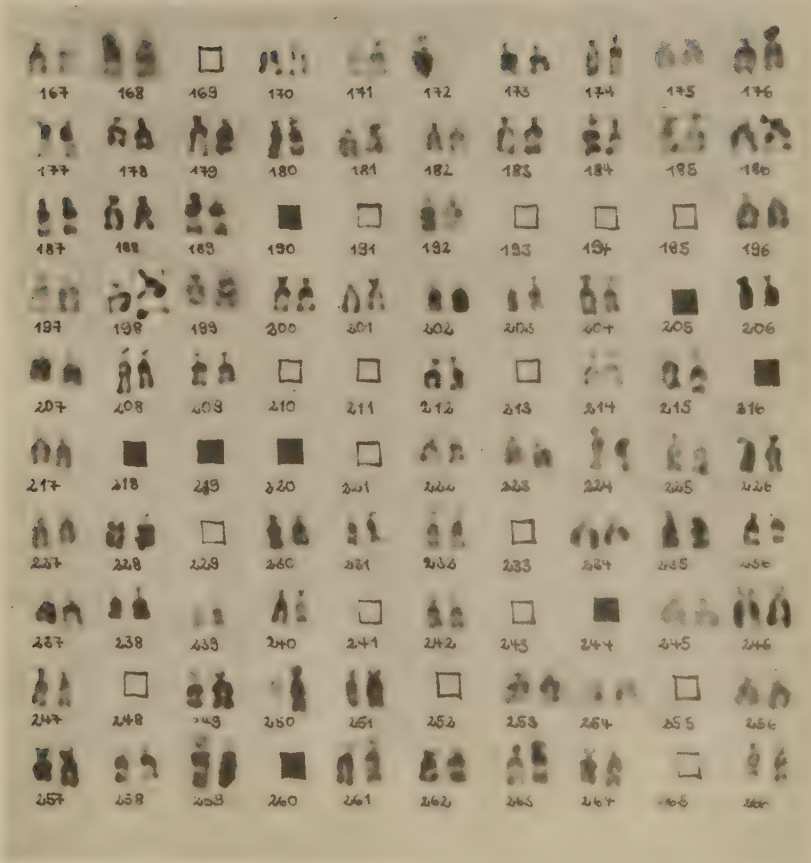
CHROMOSOM 16



CHROMOSOM 17

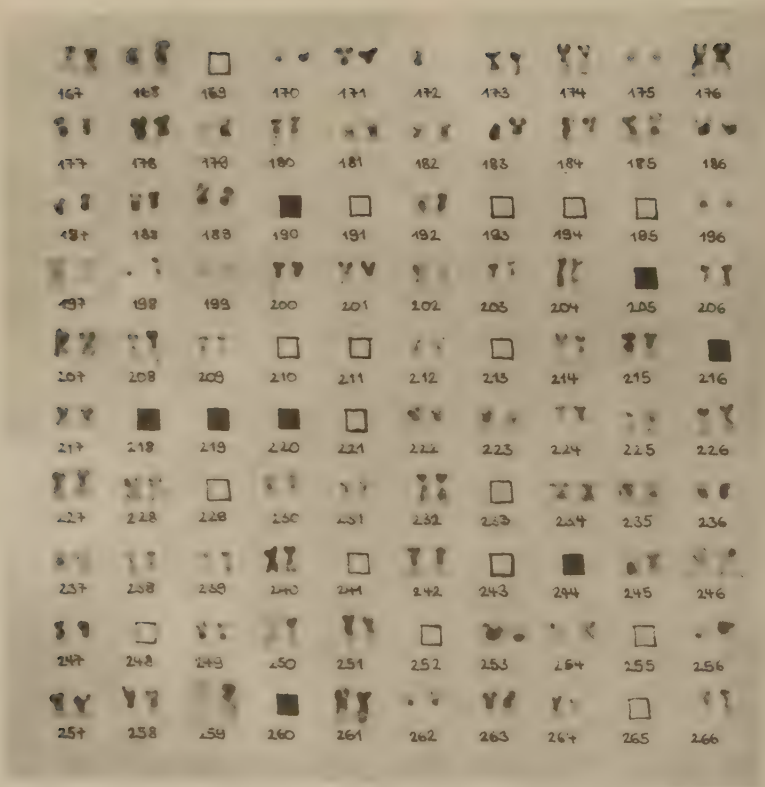


CHROMOSOM 18

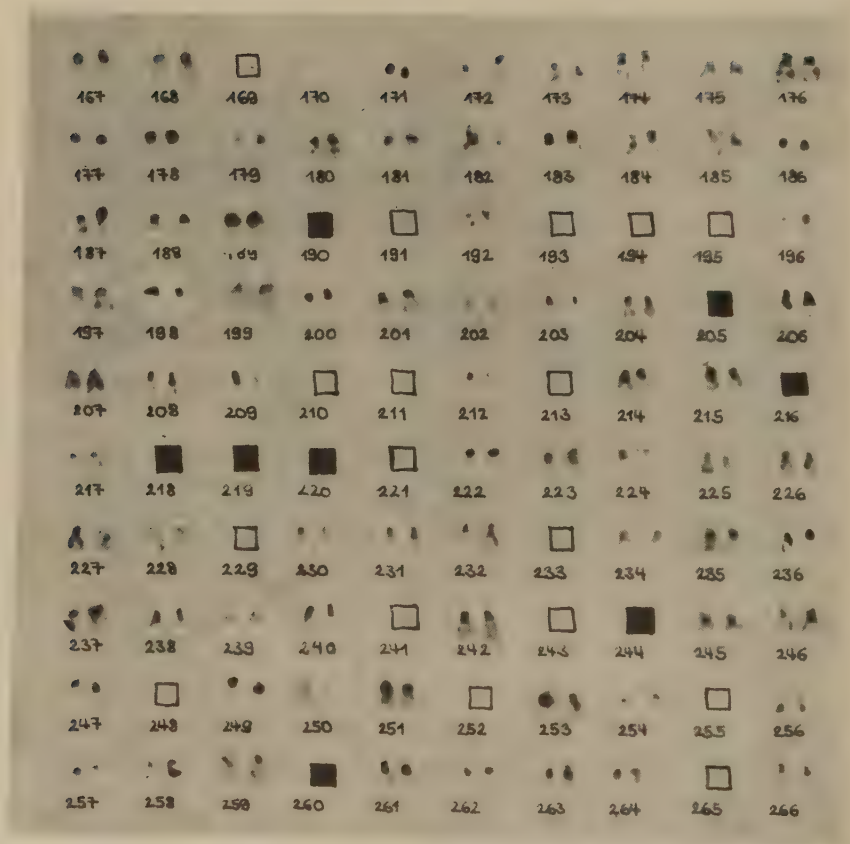


CHROMOSOM 19

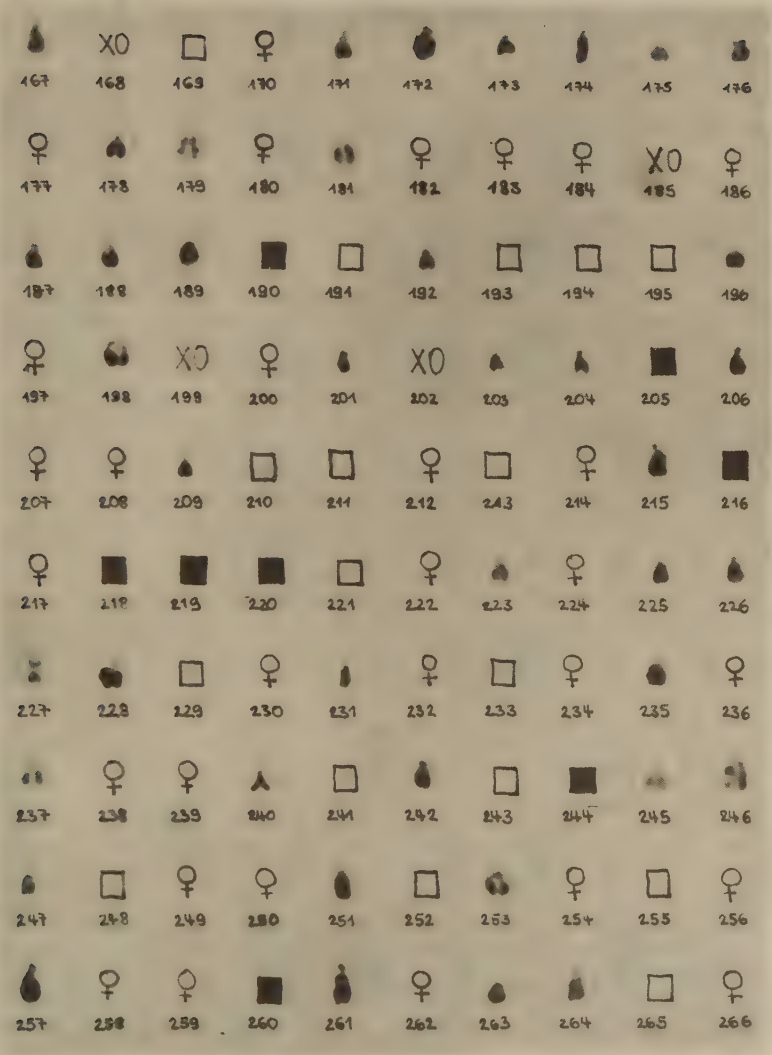
CHROMOSOM 20



CHROMOSOM 21


167 168 169 170 171 172 173 174 175 176
177 178 179 180 181 182 183 184 185 186
187 188 189 190 191 192 193 194 195 196
197 198 199 200 201 202 203 204 205 206
207 208 209 210 211 212 213 214 215 216
217 218 219 220 221 222 223 224 225 226
227 228 229 230 231 232 233 234 235 236
237 238 239 240 241 242 243 244 245 246
247 248 249 250 251 252 253 254 255 256
257 258 259 260 261 262 263 264 265 266

CHROMOSOM Y


167 168 169 170 171 172 173 174 175 176
177 178 179 180 181 182 183 184 185 186
187 188 189 190 191 192 193 194 195 196
197 198 199 200 201 202 203 204 205 206
207 208 209 210 211 212 213 214 215 216
217 218 219 220 221 222 223 224 225 226
227 228 229 230 231 232 233 234 235 236
237 238 239 240 241 242 243 244 245 246
247 248 249 250 251 252 253 254 255 256
257 258 259 260 261 262 263 264 265 266

CHROMOSOM X

Herrn Prof. Dr. med. J.D. Murken danke ich für die Überlassung des Themas, für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit und die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. med. S. Stengel-Rutkowski für die Einführung in die Problematik, die wertvollen Anregungen, sowie ihre stete Ermutigung und ihr verständnisvolles Eingehen auf alle offenstehenden Fragen.

Für die Einarbeitung in die Technik der Chromosomenpräparation und viele praktische Ratschläge danke ich Frau R. Heilmann.

L e b e n s l a u f

Am 19. März 1952 wurde ich als drittes Kind des Oberamtsrats a.D. Andreas Hofmeister und seiner Ehefrau Susanne, geb. Hinterholzer, in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und des Gerhardinger Gymnasiums (Musisches Gymnasium) in München legte ich im Juni 1971 dort die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, das ich nach Ablauf des Praktischen Jahres in Augsburg und München 1978 mit dem Staatsexamen abschloß. Im Juni 1978 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Ab Oktober 1978 bis 1980 arbeitete ich als Assistenzärztin in der Inneren Abteilung des Krankenhauses München - Harlaching. Im Anschluß daran ärztliche Tätigkeit in verschiedenen Allgemeinarztpraxen in München und im Raume Oberbayern. Seit Juli 1981 bin ich in der Chirurgischen Abteilung des Krankenhauses München-Harlaching tätig.